



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

PESQUISA DE MICRORGANISMOS NOS AEROSSÓIS LIBERTADOS DURANTE O  
PROCEDIMENTO DE DESTARTARIZAÇÃO DENTÁRIA EM CANÍDEOS

ISABEL ROSA SEZINANDO DIAS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira  
Pomba  
Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado  
Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

CO-ORIENTADOR

Dra. Ana Catarina Mateus Murta

2013

LISBOA

---





UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

PESQUISA DE MICRORGANISMOS NOS AEROSSÓIS LIBERTADOS DURANTE O  
PROCEDIMENTO DE DESTARTARIZAÇÃO DENTÁRIA EM CANÍDEOS

ISABEL ROSA SEZINANDO DIAS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutora Maria Constança Matias Ferreira  
Pomba  
Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado  
Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Doutora Esmeralda Sofia da Costa Delgado

CO-ORIENTADOR

Dra. Ana Catarina Mateus Murta

2013

LISBOA

---



## DEDICATÓRIA

À Professora Doutora Cristina Vilela.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por todos os que fizeram parte deste percurso e que me marcaram para sempre.

À Professora Doutora Esmeralda Delgado por todo o apoio e incentivo na realização deste trabalho, por tudo o que me ensinou, mas especialmente pela sua amizade e carinho. Por me ter permitido assistir e participar em todas as consultas de oftalmologia e pelo encorajamento e ajuda na realização do estágio na UAB.

À Dra. Ana Murta por toda a vontade de ensinar e partilhar conhecimentos e experiências, por toda a motivação, por toda a ajuda e acima de tudo pela relação de amizade.

Aos médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares do Hospital da FMV agradeço os 6 meses de grande aprendizagem e toda a paciência, amizade e espírito de equipa.

À Dra. Carla Carneiro pelo seu trabalho incansável, que tornou possível a realização deste estudo e por me ter guiado no mundo da microbiologia.

À Professora Doutora Cristina Vilela, pelo exemplo de força e coragem que sempre foi como mulher. Por tornar realizável o estágio no QVSH, apesar de todos os obstáculos e por toda a ajuda na orientação deste trabalho.

À Doutora Heidi Radke e a toda a equipa da QVSH por me terem recebido e integrado, por todos os conhecimentos transmitidos e por me abrirem horizontes.

À Doutora Teresa Peña, à Doutora Marta Leiva e a toda a equipa do serviço de oftalmologia da UAB por me terem recebido tão calorosamente, por me ajudarem a evoluir na área de oftalmologia e por me desafiarem.

A todos os meus colegas e amigos de estágio, quer em terras portuguesas, quer no estrangeiro, por terem vivido comigo este percurso académico, mas sobretudo por cada dia me terem feito sorrir.

Aos meus amigos, por estarem sempre presentes, pela amizade incondicional que nos une mesmo quando a distância nos separa e por me recordarem as coisas mais importantes da vida.

A toda a minha família, especialmente aos meus pais e à minha irmã, pelo apoio incondicional, por toda a paciência e por sempre terem acreditado em mim neste percurso académico.

Obrigada a todos por me ajudarem a crescer.





## **Pesquisa de microrganismos nos aerossóis libertados durante o procedimento de destartarização dentária em canídeos**

### **RESUMO**

A doença periodontal é a doença mais comum da cavidade oral em cães, tendo como principal etiologia a formação de placa bacteriana e de cálculo dentário. No tratamento da doença periodontal a remoção de placa bacteriana e de cálculo é feita recorrendo ao procedimento de destartarização dentária. Durante este procedimento ocorre a formação de aerossóis e gotículas, devido ao uso de aparelhos mecânicos ultrassónicos. Um dos riscos associados a este procedimento é a possibilidade de contaminação e infecção bacteriana da boca, olhos, vias respiratórias superiores e pele dos canídeos, veterinários e auxiliares.

O presente estudo teve como objectivos: identificar os microrganismos presentes em amostras de aerossóis libertados durante a realização da destartarização dentária, avaliando o potencial risco de contaminação com agentes patogénicos do paciente, da sala de cirurgia, dos instrumentos utilizados e do médico veterinário e auxiliares.

O estudo incluiu uma amostra aleatória de 15 canídeos com doença periodontal submetidos a destartarização dentária no Hospital Escolar da FMV. Durante o procedimento foram colhidas amostras de aerossóis, procedeu-se à sua cultura e incubação e os isolados bacterianos foram identificados.

As bactérias isoladas (n=30) foram: *Pseudomonas* spp. (20%); *Staphylococcus* spp. (13%); *Escherichia coli* (10%); *Corynebacterium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii* e *Streptococcus* spp. (7%); e *Actinomyces* sp., *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Pasteurella multocida*, *Porphyromonas asacharolytica*, *Prevotella* sp., *Proteus* sp. e *Vibrio vulnificus* (3%). Pela primeira vez identificadas as seguintes espécies bacterianas na microbiota oral de canídeos: *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium glucoronolyticum*, *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii*, *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Porphyromonas assaccharolytica* e *Vibrio vulnificus*.

Pelas espécies bacterianas isoladas e identificadas no presente estudo existe o potencial de os procedimentos dentários em cães serem um risco para a saúde animal e pública, por isso devem ser tomadas medidas de higiene e prevenção na realização.

Palavras-chave: cão; doença periodontal; destartarização dentária; aerossóis; contaminação bacteriana; higiene e prevenção.



## Research of microorganisms present in the aerosols released during dental scaling in dogs

### ABSTRACT

Periodontal disease is the most common oral condition in dogs, being bacterial plaque and dental calculus formation its main aetiology. Mechanical scaling is used as treatment for periodontal disease by removing bacterial plaque and dental calculus. During this procedure aerosols and splatters are produced while using mechanical ultrasonic scalers. One of the hazards associated with this procedure is the contamination and infection of the mouth, eyes, upper respiratory tract and skin of dogs, veterinaries and clinical assistants.

The objectives of this study were: to identify the microorganisms present in samples obtained from the aerosols produced in the dental scaling evaluating the risk of contamination by pathogenic agents of the patient, surgery room, instruments, veterinarians and clinical assistants.

A random sample of 15 dogs with periodontal disease, to whom a dental scaling was performed at the FMV School Hospital, was used in this study. During the procedure of the dental scaling samples from the aerosols were collected, cultured and incubated and the isolated bacteria were identified.

Isolated bacteria (n=30) were: *Pseudomonas* spp. (20%); *Staphylococcus* spp. (13%); *Escherichia coli* (10%); *Corynebacterium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii* and *Streptococcus* spp. (7%); and *Actinomyces* sp., *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Pasteurella multocida*, *Porphyromonas asacharolytica*, *Prevotella* sp., *Proteus* sp. and *Vibrio vulnificus* (3%). For the first time the following bacterial species were identified from the oral microbiota of dogs: *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium glucoronolyticum*, *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii*, *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Porphyromonas assaccharolytica* e *Vibrio vulnificus*.

The bacterial species isolated and identified in this study, oral procedures in dogs represent a hazard to public and animal health, so hygiene and prevention measures must be applied.

Keywords: dog; periodontal disease; dental scaling; aerosol; bacterial contamination; hygiene and prevention.



## ÍNDICE GERAL

DEDICATÓRIA.....	ii
AGRADECIMENTOS.....	iv
RESUMO.....	vi
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xiii
ÍNDICE DE TABELAS.....	xiii
LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS .....	xiv
I- RELATÓRIO DE ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR.....	1
1. Introdução .....	1
2. Actividades desenvolvidas no Hospital Escolar da FMV-UL .....	1
2.1 Medicina Interna .....	2
2.2 Imagiologia .....	2
2.3 Cirurgia .....	2
2.4 Internamento.....	3
3. Actividades desenvolvidas no QVSH-Cambridge .....	3
4. Actividades desenvolvidas no Serviço Oftalmologia HCV-UAB .....	4
II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	6
1. Introdução .....	6
2. Doença periodontal em canídeos.....	6
2.1 Prevalência .....	6
2.2 Factores predisponentes .....	7
2.2.1 Locais .....	7
2.2.2 Factores do hospedeiro .....	7
2.3 Etiologia .....	8
2.4 Patogénese.....	12
2.4.1 Gengivite .....	12
2.4.2 Periodontite .....	13
2.5 Diagnóstico e estadiamento .....	14
2.5.1 Exame clínico .....	14
2.5.2 Avaliação radiográfica.....	17
2.5.3 Estadiamento .....	18
2.6 Complicações locais e sistémicas.....	20
2.7 Prevenção.....	21

2.8	Terapêutica.....	23
2.8.1	Destartarização e polimento dentários .....	23
2.8.2	Terapêutica farmacológica: antimicrobianos, anti-sépticos e moduladores da resposta inflamatória do hospedeiro.....	26
2.8.3	Terapêutica cirúrgica .....	29
3.	Aerossóis dentários .....	31
3.1	Aerossóis formados na destartarização dentária .....	31
3.2	Microbiota oral no cão.....	32
3.3	Riscos infecciosos associados a aerossóis da destartarização .....	35
3.4	Medidas de protecção.....	38
III- ESTUDO DE PESQUISA DE MICRORGANISMOS NOS AEROSSÓIS LIBERTADOS DURANTE O PROCEDIMENTO DE DESTARTARIZAÇÃO DENTÁRIA EM CANÍDEOS ....		
2.	Materiais e métodos .....	42
2.1	Amostra .....	42
2.2	População em estudo .....	42
2.3	Dados recolhidos.....	42
2.4	Classificação da gravidade da doença periodontal.....	43
2.5	Grupos em estudo.....	43
2.6	Origem dos isolados e colheita das amostras.....	46
2.7	Processamento das amostras .....	47
2.7.1	Isolamento bacteriano .....	47
2.7.2	Pesquisa de microrganismos aeróbios .....	48
2.7.3	Pesquisa de microrganismos anaeróbios .....	49
3.	Resultados.....	51
3.1	Caracterização da amostra .....	51
3.1.1	Estadio da doença periodontal.....	51
3.1.2	Caracterização da amostra quanto ao sexo vs. estadio da doença periodontal	51
3.1.3	Caracterização da amostra quanto à idade vs. estadio da doença periodontal	52
3.1.4	Caracterização da amostra quanto à raça vs. estadio doença periodontal .....	52
3.1.5	Caracterização da amostra quanto à terapêutica antimicrobiana em curso.....	53
3.1.6	Caracterização da amostra quanto à terapêutica antimicrobiana em curso vs. estadio da doença periodontal.....	53
3.2	Microrganismos isolados por paciente .....	54
3.3	Microrganismos isolados – frequência relativa .....	56
4.	Discussão .....	57
4.1	Amostra .....	57

4.2	Métodos utilizados .....	57
4.3	Isolados bacterianos identificados .....	58
4.4	Comparação entre grupos experimentais .....	66
4.5	Riscos para a saúde animal e saúde pública .....	67
4.6	Medidas de higiene aconselhadas .....	68
5.	Conclusões e perspectivas futuras.....	70

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Cálculo dentário supragengival em cão .....	11
Figura 2- Gengivite em cão .....	13
Figura 3- Periodontite em cão com recessão gengival, exposição das furcas dentárias, exsudado purulento, cálculo dentário e alguns dentes ausentes .....	14
Figura 4- Sonda periodontal na face palatina de dente incisivo, com PSP 7mm .....	16
Figura 5- Técnica do paralelismo (à esquerda) e da bissectriz (à direita) .....	17
Figura 6- Fístula infra-orbitária em cão .....	20
Figura 7- Técnica de escovagem de dentes de Bass em cão em esquema (A) e fotografia (B) .....	22
Figura 8- Destartarização supragengival em cão com modelo mecânico ultrassônico .....	25
Figura 9- Aplicação de antimicrobiano local com Doxicilina em gel em cão .....	28
Figura 10- Aerossóis e gotículas formadas na destartarização dentária de cão, com aparelho ultrassônico. ....	31
Figura 11 – Aspecto de placa de isolamento de microrganismos aeróbios e meio de cultura de COS após incubação a 37°C durante 24h.....	47
Figura 12 – Aspecto de placa de isolamento de microrganismos aeróbios e meio de cultura de COS após isolamento e incubação a 37°C durante 24h.....	48
Figura 13– Aspecto de placas de isolamento de microrganismos anaeróbios estritos de cultura SCS e saco de anaerobiose após isolamento e incubação a 37°C durante 48h. ....	50

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas várias rotações do Hospital Escolar da FMV-UL. ....	1
Gráfico 2- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas várias rotações QVSH-Cambridge. ....	3
Gráfico 3- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas áreas do Serviço de Oftalmologia do HCV-UAB.....	4
Gráfico 4- Percentagens dos estádios de doença periodontal na amostra de 15 canídeos. ....	51
Gráfico 5 - Frequências absolutas de fêmeas e machos na amostra de 15 canídeos.....	51
Gráfico 6- Relação entre a idade dos cães e o estadio de doença periodontal. ....	52
Gráfico 7- Relação entre raça de cães e o estadio de doença periodontal. ....	52
Gráfico 8- Antimicrobianos prescritos aos canídeos do estudo nas duas semanas antes da destartarização dentária.....	53
Gráfico 9- Distribuição dos 15 canídeos sujeitos ou não a terapêutica antimicrobiana nos diferentes estadios de doença periodontal. ....	53
Gráfico 10- Isolados bacterianos na amostra de 15 canídeos com doença periodonta .....	56

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Estadios da doença periodontal. ....	19
Tabela 3- Antimicrobianos utilizados no tratamento de doença periodontal. ....	27
Tabela 4 – Caracterização dos cães utilizados, classificação do estadio de doença periodontal e tratamentos antimicrobianos utilizados no período de duas semanas antes da destartarização dentária.....	44
Tabela 5 – Testes bioquímicos comerciais utilizados para identificação dos diferentes microrganismos. ....	49
Tabela 6 – Isolados bacterianos nos 15 canídeos estudados, grupos G1 e G2 de cães. ....	55



## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

% – Percentagem

< – Menor

= – Igual

> – Maior

AAHA - *American Animal Hospital Association*

AINEs - Anti-inflamatórios não esteróides

API - *Analytical Profile Index*

AVDC - *American Veterinary Dental College*

BD - *Becton, Dickinson and Company*

BID – A cada doze horas

BPAB - *Black pigmented anaerobic bacteria*

COS - Agar-sangue Columbia com 5% de sangue de carneiro

DNA - Ácido desoxirribonucleico

FMV- Faculdade de Medicina Veterinária

h – Horas

HCV- *Hospital Clínic Veterinari*

Hz – Hertz

IL- Interleucina

kg – Quilograma

LPS – Lipossacáridos

mg- Miligrama

min- Minutos

ml- Mililitro

mm – Milímetro

MRSA - *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina

NCI- Nível clínico de inserção

nm - Nanómetro

µm- Micrómetro

PAD - Perda de adesão dentária

PCR- *Polymerase chain reaction*

PGE2- Prostaglandina E2

PSP - Profundidade da sondagem periodontal

QVSH- *Queen's Veterinary School Hospital*

RNA- Ácido ribonucleico

rpm – Rotações por minuto

SCS - Agar-sangue Schaedler com 5% de sangue de carneiro

SIDA - Síndrome da imunodeficiência adquirida

T.A.C- Tomografia axial computadorizada

TID – A cada oito horas

TNF - Factor de necrose tumoral

UAB- *Univesitat Autònoma de Barcelona*

UFC - Unidades formadoras de colónias

UL- Universidade de Lisboa

VOHC - *Veterinary Oral Health Council*



## I- RELATÓRIO DE ACTIVIDADES DESENVOLVIDAS DURANTE O ESTÁGIO CURRICULAR

### 1. Introdução

O estágio curricular foi realizado no contexto do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da FMV-UL e abrangeu a área de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia, com especial enfoque na área de Oftalmologia.

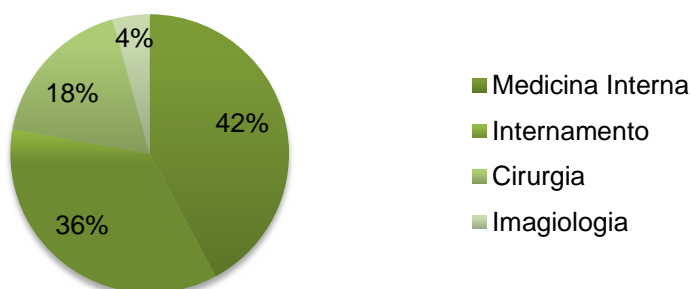
Este estágio compreendeu um período de seis meses no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa, decorrido entre 1 de Setembro e 31 de Dezembro de 2012 e de 1 de Abril a 31 de Maio de 2013. Além disso, com o programa Erasmus houve a possibilidade de fazer um estágio no *Queen's Veterinary School Hospital* (QVSH) da Universidade Veterinária de Cambridge, com a duração de três meses, entre 7 de Janeiro e 30 de Março de 2013. E de 1 a 30 de Junho foi possível visitar o Serviço de Oftalmologia do *Hospital Clínic Veterinari* da *Univesitat Autònoma de Barcelona* (HCV-UAB).

### 2. Actividades desenvolvidas no Hospital Escolar da FMV-UL

O estágio no Hospital Escolar da FMV-UL abrangeu as áreas de Medicina Interna, Cirurgia, Imagiologia e Internamento. O horário de funcionamento do hospital nos dias de semana é das 9 às 21 horas em todos os serviços veterinários, com serviço de urgências a partir das 21 horas. O Internamento encontra-se activo durante 24 horas.

No estágio foi realizada uma rotação por todas as actividades do hospital, com uma carga horária total de 1480 horas, sendo a Medicina Interna e o Internamento as áreas nas quais se despendeu mais tempo, 624 e 528 horas, respectivamente.

Gráfico 1- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas várias rotações do Hospital Escolar da FMV-UL.



Em todo o trabalho realizado houve sempre supervisão e acompanhamento por parte dos professores, médicos veterinários, enfermeiros e auxiliares, e foi sempre fomentada a

interacção com os alunos do 3º, 4º, e 5º ano que se encontravam em aulas práticas no âmbito do Mestrado Integrado de Medicina Veterinária.

## **2.1 Medicina Interna**

Na Medicina Interna acompanharam-se sobretudo consultas externas de cães e gatos e, por vezes, de animais exóticos. Além disso, houve a possibilidade de acompanhar consultas de referência na área de Oftalmologia. A aluna estagiária teve como principais funções a realização de anamnese e história pregressa e exame clínico do animal. Os casos clínicos eram posteriormente apresentados ao médico veterinário responsável e discutido o plano de diagnóstico e a abordagem terapêutica. Neste âmbito, a aluna estagiária realizou autonomamente alguns procedimentos como: imunização e identificação electrónica de animais, administração de medicação injectável, colheita de sangue para análises hematológicas e bioquímicas, realização de testes rápidos de diagnóstico, cateterização para instituir fluidoterapia intravenosa, limpeza e desinfecção de feridas, citologias cutâneas, punção aspirativa de agulha fina, teste de fluoresceína e teste de Schirmer. Acompanhou igualmente exames de diagnóstico como electrocardiogramas, radiografias, ecografias e tomografia axial computadorizada (T.A.C.).

## **2.2 Imagiologia**

A rotação em Imagiologia compreendeu o auxílio na realização de exames radiográficos, ecográficos e tomográficos. A aluna estagiária teve como funções o auxílio no posicionamento do animal, revelação de películas radiográficas e posterior análise e interpretação, com apoio dos médicos veterinários do serviço. Também assistiu e ajudou na realização de exames de contraste como mielografias. Em relação às ecografias, auxiliou na preparação do paciente, seu posicionamento e contenção, e procedeu à interpretação, com supervisão do médico veterinário responsável, sobretudo de ecografias abdominais e ecocardiografias. Nas T.A.C., as funções da aluna estagiária foram sobretudo fazer o posicionamento inicial do paciente e a monitorização da anestesia, sendo os resultados discutidos com o médico veterinário responsável pelo serviço.

## **2.3 Cirurgia**

Na área de cirurgia, realizou o acompanhamento dos animais pré- e pós-cirurgicamente, além da participação em várias cirurgias. As actividades realizadas nesta área compreenderam a recepção dos animais e a preparação cirúrgica dos mesmos, com instituição de fluidoterapia intravenosa, indução anestésica, tricotomia e desinfecção da área a intervir. Durante as cirurgias, realizou funções na monitorização anestésica, como circulante e ajudante de cirurgião. Algumas intervenções cirúrgicas foram realizadas autonomamente com a supervisão de um médico veterinário cirurgião responsável, como orquiectomia de gato e ovariohisterectomia de gata. No período pós-operatório a aluna

estagiária foi responsável pelos animais, assegurando-se que estavam alerta e activos, e com a temperatura corporal adequada. Além disso, foi responsável pela elaboração de notas de alta, com prescrição de medicação, entrega dos animais aos proprietários e recomendações quanto aos cuidados ambulatoriais.

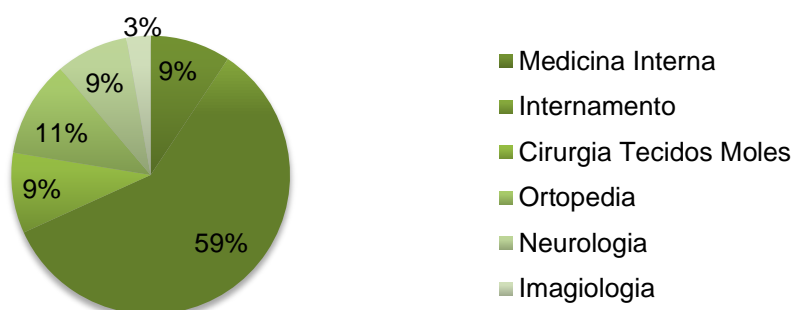
## 2.4 Internamento

Os turnos no serviço do internamento tiveram a duração de 24 horas e tinham o acompanhamento do médico destacado neste serviço, um ou mais enfermeiros veterinários e alunos do 4º e 5º ano. No início de cada turno eram apresentados os casos clínicos internados e a aluna estagiária foi responsável pela administração das medicações prescritas, monitorização dos sinais vitais, cuidados de alimentação e passeios. Além disso, realizou outros procedimentos, sempre com auxílio e supervisão, como a colocação de cateteres para sistema de venoclise, a algaliação de animais, colheitas de sangue e urina para análise, a limpeza e desinfecção de feridas e a realização de pensos.

## 3. Actividades desenvolvidas no QVSH-Cambridge

O estágio no QVSH foi rotacional, em blocos semanais ou de duas semanas, compreendendo as áreas de Medicina Interna, Cirurgia de tecidos moles, Ortopedia, Imagiologia, Neurologia, Internamento e Cuidados Intensivos. Os serviços referidos funcionam por marcação de consultas, de 2ª a 6ª feira da parte da manhã entre as 9 e as 13 horas, à excepção do Internamento e Cuidados Intensivos que se encontram a funcionar 24 horas. No total do estágio a carga horária foi de 760 horas, tendo-se dispendido a maior parte do tempo no Internamento e Cuidados Intensivos, com um total de 504 horas, seguido da rotação de Ortopedia com um total de 96 horas.

Gráfico 2- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas várias rotações QVSH- Cambridge.



As consultas neste hospital são asseguradas por um ou dois alunos do último ano do curso, com realização de anamnese e história pregressa e exame clínico do animal, posterior discussão e apresentação aos Professores, Clínicos Gerais e/ou Residentes responsáveis.

A aluna estagiária foi responsável pela condução do caso clínico e de exames complementares de diagnóstico, redacção de relatórios de consulta e comunicação com proprietários e médicos veterinários, acompanhamento dos animais em caso de hospitalização e participação em rondas clínicas de apresentação dos casos.

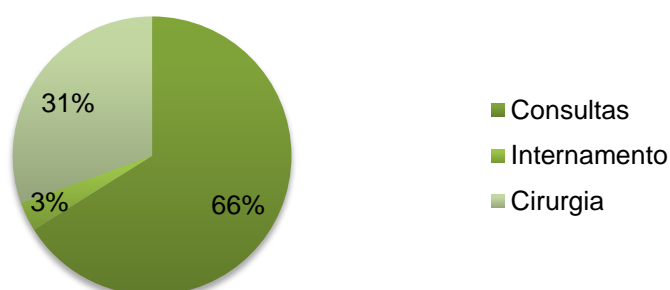
No serviço de Medicina Interna e Neurologia a aluna acompanhou e foi responsável por consultas de rotina e seguimentos clínicos, assistiu aos procedimentos de realização de exames complementares, ao tratamento dos animais internados e à discussão dos casos clínicos nas rondas hospitalares. Em Ortopedia e Cirurgia de Tecidos Moles, a aluna acompanhou os casos clínicos nas consultas, auxiliou as cirurgias como circulante e ajudante de cirurgião e fez acompanhamento a nível hospitalar dos animais internados.

Na rotação de Internamento e Cuidados Intensivos, a aluna participou na administração de medicação e cuidados dos animais internados, com a supervisão do médico veterinário responsável e ajuda de alunos do curso e enfermeiros. Além disso, participou nas consultas de emergência nesse horário.

#### 4. Actividades desenvolvidas no Serviço Oftalmologia HCV-UAB

O serviço de Oftalmologia funciona de 2ª a 6ª feira no horário entre as 8h e as 20h, no *Hospital Clínic Veterinari* da UAB. Às 2ª, 4ª e 6ª feiras da parte da manhã são realizadas as consultas e à tarde discussão dos casos clínicos, exames de diagnóstico complementares, ou discussão de artigos. Nas 3ª e 5ª feiras da parte da manhã realizam-se cirurgias e à tarde consultas. Relativamente às consultas de oftalmologia foram realizadas um total de 156 horas e na cirurgia de casos clínicos de oftalmologia um total de 72 horas.

Gráfico 3- Frequências relativas (%) às horas despendidas nas áreas do Serviço de Oftalmologia do HCV-UAB.



A aluna estagiária acompanhou e auxiliou nas consultas de oftalmologia de animais de companhia, animais exóticos, aves e equídeos, tanto no hospital escolar como em visitas exteriores, que se encontravam a cargo dos residentes de oftalmologia. Além disso, assistiu à realização de exames de diagnóstico complementares como electrorretinografia e ecografia ocular. Na cirurgia, entre as actividades realizadas, auxiliou na indução anestésica

e na assistência como circulante, nomeadamente em cirurgias de cataratas por facoemulsificação, correcção de entrópion e ectropion, exérese de nódulos palpebrais, enxertos conjuntivais e de córnea, e transposição do ducto de Stenon.



## **II- REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

### **1. Introdução**

A doença periodontal é prevalente em cães, resultando da acção de microrganismos que formam a placa bacteriana e da resposta inflamatória por parte do hospedeiro. No tratamento da doença periodontal é importante a remoção mecânica da placa e cálculo dentários, como agentes etiológicos da doença. Hoje em dia é generalizado o uso de aparelhos mecânicos sónicos e ultra-sónicos para a destaratarização dentária de cães, existindo vários riscos inerentes a este procedimento como a formação e libertação de aerossóis bacterianos. A formação de aerossóis bacterianos na destaratarização dentária tem sido alvo de estudo em medicina dentária humana, quer em termos quantitativos, quer qualitativos, devido ao risco de transmissão de agentes infecciosos. Em medicina veterinária não existem estudos feitos nesta área, tendo-se desenvolvido este estudo preliminar para avaliação dos microrganismos presentes nos aerossóis que se libertam na destaratarização dentária de cães com doença periodontal e avaliar potenciais riscos para a saúde do animal e saúde pública.

### **2. Doença periodontal em canídeos**

#### **2.1 Prevalência**

Segundo Gorrel (1998a) a doença periodontal tem sido identificada em animais domésticos nos últimos 70 anos. Num estudo realizado por Lund, Armstrong, Kirk, Kolar e Klausner (1999), em que foram avaliadas as prevalências das doenças mais comuns em cães e gatos de várias clínicas veterinárias dos Estados Unidos da América no ano de 1995, verificou-se que o cálculo dentário (20,5%) e gengivite (19,5%) eram as doenças mais prevalentes. Kyllar e Witter (2005), Hamp, Olsson, Fars-Madsen, Viklands e Fornell (1984) e Ilgatz e Birgele (2003) concluíram que entre as afecções da cavidade oral, a doença periodontal é a mais prevalente em cães. De uma maneira geral, a doença periodontal tem, aumentado nos últimos anos (Fernandes, Borges, Reis, Sepúlveda, & Pontes, 2012; Gad, 1968; Gaengler & Hoffman, 1996; Ilgatz & Birgele, 2003; Kyllar & Witter, 2005). Fernandes *et al* (2012) no Brasil referem uma incidência de 88,7% em cães, enquanto Kyllar e Witter (2005) referem uma incidência de 60% na República Checa. Para alguns autores, o aumento da prevalência da doença periodontal deve-se a uma maior consciência e à procura dos serviços veterinários por parte dos proprietários dos animais, e a um aumento do conhecimento e atenção a nível dos clínicos veterinários relativamente a esta doença (Gorrel, 1998a; Killar & Witter, 2005).

Vários estudos concluíram que existe uma relação directa entre a prevalência e a gravidade da doença periodontal e o aumento da idade em cães (Fernandes *et al.*, 2012; Gad, 1968;

Gaengler & Hoffmann, 1996a, 1996b; Hamp *et al.*, 1984; Kyllar & Witter, 2005; Telhado, Junior, Diele & Marinho, 2004). Nos canídeos, comparativamente ao Homem, a evolução da doença periodontal é cinco vezes mais rápida (Gad, 1968). Encontra-se presente precocemente em animais jovens, com possibilidade de presença de sinais clínicos de doença periodontal aos 2 anos de idade (Gaengler & Hoffmann, 1996a; Telhado *et al.*, 2004; Kortegaard, Eriksen & Baelum, 2008). Gaengler & Hoffmann (1996a) verificaram um aumento significativo da prevalência e gravidade de periodontite em cães com idades entre 6 e 7 anos, sugerindo este grupo como sendo um grupo de risco.

Estudos confirmaram que raças de cães de pequeno porte e miniatura, como as raças Caniche e Yorkshire Terrier, apresentam uma maior prevalência de doença periodontal. (Corrêa, Maia, Bittencourt & Silva, 2009; Gorrel, 2008a; Hamp *et al.*, 1984; Killar & Witter, 2005).

## **2.2 Factores predisponentes**

### **2.2.1 Locais**

A deposição de cálculo dentário é um factor que predispõe para a doença periodontal, ao promover a formação de placa dentária, pelas características da sua superfície irregular (Gioso, 2011a; Moolya *et al.*, 2010). Lindhe, Hamp e Loe (1973) num estudo com a duração de 4 anos realizado com 20 cães da raça Beagle concluíram existir uma correlação entre a presença de cálculo dentário e a prevalência e gravidade de doença periodontal.

Anomalias no posicionamento dentário, como por apinhamento dentário e persistência de dentes decíduos, predispõem para a doença periodontal ao promover a formação de placa dentária e dificultar a higiene oral (Klein, 2000; Lindhe & Svanberg, 1974; Niemiec, 2008a; Sowkup, 2010).

Outros factores locais identificados como predisponentes na doença periodontal são: afecções gengivais, como a hiperplasia gengival idopática, ou inflamatória, ou neoplásica, ou com origem na administração de alguns fármacos; lesões gengivais e dentárias causadas pelo atrito e abrasão que se gera em actividades como, por exemplo, o roer gradeamentos; e a existência de corpos estranhos na cavidade oral como pêlos (Niemiec, 2008a; Sowkup, 2010).

A saliva possui na sua composição factores antimicrobianos, anticorpos e enzimas que têm acção contra os microrganismos da cavidade oral, pelo que alterações na sua composição ou produção influenciam a saúde periodontal dos canídeos (Lendenmann, Grogan, & Oppenheim, 2000; Paquette *et al.*, 1997; Sowkup, 2010).

### **2.2.2 Factores do hospedeiro**

Alguns dos factores locais, como o apinhamento dentário anteriormente referido, são hereditários, sendo mais comuns em raças pequenas e braquicefálicas. Os mecanismos genéticos que regulam a mal oclusão não são conhecidos, mas pensa-se que sejam poligénicos (Gorrel & Nind, 2008; Sowkup, 2010).

Nos últimos anos, em medicina humana verificou-se que existe uma base genética na predisposição e progressão da doença periodontal, sobretudo a nível da regulação da resposta inflamatória (Yoshie, Kobayashi, Tai & Galicia, 2007). No cão têm sido desenvolvidos estudos para avaliação da variabilidade genética dos genes de regulação da interleucina IL-6 e da lactoferrina (Morinha *et al.*, 2012).

As doenças sistémicas também afectam a saúde oral e estão implicadas na progressão da doença periodontal (Sowkup, 2010). Estudos em medicina humana salientam que a Diabetes mellitus afecta a saúde oral e contribui para a progressão da doença periodontal (Kumar, Pandey, Singh, Mittra & Kumar, 2013; Loe, 1993). Glucocorticóides endógenos ou exógenos, quimioterapia, afecções hematológicas como a leucemia e a anemia, osteopénia e osteoporose foram sugeridos em medicina humana como factores de risco no desenvolvimento da doença periodontal (Albandar, 2002; Genco & Borgnakke, 2013; Niemiec, 2008a; Sowkup, 2010).

A dieta também influencia a saúde oral dos canídeos. A textura das rações comerciais é o factor mais relevante na formação de placa bacteriana (Gorrel, 1998a). A ração seca é a mais benéfica para a saúde oral dos cães, pela sua acção mecânica na remoção da placa bacteriana, estando relacionada com uma menor incidência de doença periodontal (Buckley *et al.*, 2011; Gawor *et al.*, 2006). Contudo, Capik (2010), não verificou diferenças significativas na deposição de placa dentária aquando do uso de uma dieta seca ou húmida num estudo que realizou em 6 cães de raça Chihuahua, que foram submetidos a períodos de 8 semanas com 3 tipos de rações: seca, húmida e própria para manutenção da higiene oral.

### **2.3 Etiologia**

A causa primária da doença periodontal é a placa bacteriana (Gorrel, 1998b). Num estudo realizado por Lindhe, Hamp e Loe (1975) com cães da raça Beagle, com a duração de 4 anos, estes autores provaram que a placa bacteriana origina gengivite com posterior evolução para periodontite.

A nível macroscópico a placa bacteriana visualiza-se como um depósito de coloração branco-amarelada (Sowkup, 2010; Ureña & Pérez, 2005). A nível microscópico a placa bacteriana apresenta-se como um biofilme, ou seja, trata-se de um conjunto de células microbianas que se dispõem de modo estratificado formando sistemas e que se encontram aderentes a uma superfície (Wood *et al.*, 2000). De modo geral, a placa bacteriana é

formada por microrganismos organizados em colónias (75-80%) e uma matriz acelular (15-20%) composta por glicoproteínas salivares e polissacáridos extracelulares (Marsh & Bradshaw, 1995; Sowkup, 2010; Ureña & Pérez, 2005).

A deposição de placa dentária é favorecida sobretudo nas fissuras dentárias e nas áreas da superfície lisa do dente mais protegidas, como a zona interdentária e o sulco gengival, pois não estão sujeitas à acção de fricção dos tecidos moles (Listgarten, 1994). No estudo de Eurides, Gonçalves, Mazzanti e Buso (1996) verificou-se uma menor incidência de placa bacteriana nos dentes incisivos; por oposição, os dentes mais afectados foram os pré-molares, embora sem diferença significativa relativamente aos dentes caninos e molares. A placa bacteriana não demonstra uma composição uniforme, existindo diferenças entre os vários dentes e a nível das faces do mesmo dente (Marsh & Bradshaw, 1995; Rosan & Lamont, 2000; Slots, 1979; Ureña & Pérez, 2005).

Numa cavidade oral saudável, a formação de placa dentária inicia-se a nível supragengival, ou seja, na superfície exposta do dente. Esta pode progredir para o sulco gengival, a um nível inferior à margem gengival, passando a receber a denominação de subgengival (Bernimoulin, 2003; Niemiec, 2008a; Ureña & Pérez, 2005). Na formação da placa bacteriana como biofilme microbiano distinguem-se várias fases, como a adesão, a colonização e a maturação (Sowkup, 2010; Ureña & Pérez, 2005).

Na formação da placa bacteriana surge primeiro a película dentária, uma estrutura orgânica não celular, que recobre a superfície dos dentes e que se cria no dente poucos minutos após a exposição ao ambiente da cavidade oral (Hannig, 1999; Lendenmann *et al.*, 2000). Na constituição da película dentária encontram-se produtos de origem proteica derivados da saliva, do fluido gengival crevicular, das células epiteliais da mucosa oral e dos próprios microrganismos (Siqueira, Custodio & McDonald, 2012; Ureña & Pérez, 2005). As principais funções da película dentária são a lubrificação, a protecção do esmalte dentário e a defesa contra agentes microbianos (Hara *et al.*, 2006; Siqueira *et al.*, 2012; Tabak, Levine, Mandel & Ellison, 1982). Na formação inicial da placa bacteriana, a película desempenha um papel activo na adesão de bactérias à superfície do dente, possibilitando a permanência dos microrganismos na superfície dentária apesar do fluxo salivar e do movimento da língua. (Lendenmann *et al.*, 2000; Rosan & Lamont, 2000).

Um considerável número de microrganismos entra em contacto com a película dentária através do fluxo salivar, da adesão a células epiteliais descamadas ou por apresentarem mobilidade ao possuírem flagelos na sua constituição (Marsh, Moter & Devine, 2011; Ureña & Pérez, 2005). A adesão bacteriana à película que recobre a superfície dentária inicialmente é reversível, ao estabelecer-se com base em interacções físico-químicas fracas (Busscher, Cowan & van der Mei, 1992; Marsh *et al.*, 2011; Marsh, 2006; Ureña & Pérez,

2005). Posteriormente verifica-se a colonização primária pelos microrganismos, mediada pela ligação irreversível de adesinas, que se encontram na superfície celular dos microrganismos, a receptores complementares presentes na película dentária (Jenkinson & Lamont, 1997; Marsh *et al.*, 2011; Scannapieco, 1994; Ureña & Pérez, 2005; Whittaker, Klier & Kolenbrander, 1996).

Na colonização primária da película dentária predominam os microrganismos de metabolismo aeróbio (Syed, Svanberg & Svanberg, 1980, 1981; Ureña & Pérez, 2005). No clássico estudo de Ritz (1967), em que se realizou a recolha de amostras de placa dentária ao longo de vários dias, no início de formação da placa dentária foram identificados bacilos e cocos Gram positivos aeróbios facultativos. As colonizações secundária e terciária que se seguem ocorrem por intermédio de mecanismos de agregação, união de bactérias taxonomicamente relacionadas, e co-agregação, ligação entre microrganismos diferentes do ponto de vista taxonómico (Ureña & Pérez, 2005). O crescimento do biofilme em espessura leva a diminuição do potencial de oxidação-redução, com alteração do ambiente aeróbio para anaeróbio (Marsh *et al.*, 2011; Ritz, 1967). Tal alteração cria condições favoráveis ao crescimento de microrganismos anaeróbios. Os microrganismos cocos Gram positivos começam então a diminuir em proporção e verifica-se um aumento dos bacilos Gram negativos (Ramberg, Sekino, Uzel, Socransky & Lindhe, 2003; Ritz, 1967; Syed *et al.*, 1981).

A obtenção de nutrientes provém, maioritariamente, de fontes endógenas como as proteínas que compõem a saliva e o fluido gengival crevicular e, em menor escala, da dieta do hospedeiro como fonte nutricional exógena (Beighton, Smith & Hayday, 1986; Bernimoulin, 2003; Marsh, 2006; Marsh *et al.*, 2011; Palmer, Kazmerzak, Hansen & Kolenbrander, 2001). O crescimento gradual da placa supragengival afecta o sulco gengival, levando à formação de bolsas periodontais, que apresentam condições de anaerobiose, que promovem o crescimento de microrganismos anaeróbios (Listgarten, 1994). Assim, em oposição à placa supragengival, as bactérias que colonizam a região subgengival são sobretudo espiroquetas associadas a bacilos Gram negativos (Davies & Soames, 1973; Slots, 1979; Syed *et al.*, 1980, 1981; Zee, Samaranayake & Attström, 1996).

Na fase de maturação da placa dentária há produção de uma matriz extracelular composta por polissacáridos e outras macromoléculas. Esta matriz extracelular providencia um arranjo estrutural, auxilia a adesão à superfície dentária, actua como uma barreira protectora e possibilita retenção de água, nutrientes e enzimas (Allison, 2003; Marsh *et al.*, 2011; Ureña & Pérez, 2005).

Alterações na constituição do ambiente em que se encontram os microrganismos podem conduzir a uma quebra da ligação dos mesmos ao biofilme, com possível colonização de outros locais da cavidade oral (Kaplan, Meyenhofer & Fine, 2003; Lee, Li, & Bowden, 1996;

Marsh, 2004; Marsh *et al.*, 2011). Como biofilme, a placa bacteriana apresenta também interações metabólicas entre os diferentes microrganismos, alterações na regulação genética e na aquisição de resistência a antimicrobianos (Brown & Whiteley, 2007; Eglund, Palmer & Kolenbrander, 2004; Hannan *et al.*, 2010; Robert *et al.*, 2001; Sowkup, 2010)

A placa bacteriana pode sofrer mineralização e formar o cálculo dentário, tanto a nível supra como subgengival (Niemic, 2008a). A calcificação da placa dentária deve-se à deposição de minerais presentes na saliva, que formam 70 a 90% do total da composição da saliva (Niemic, 2008a; Ureña & Pérez, 2005). No cão os minerais predominantes são o carbonato de cálcio e a hidroxiapatite, cuja precipitação é favorecida pelo pH alcalino salivar, contrariamente ao que se verifica no Homem que apresenta um pH salivar ligeiramente ácido (Legeros & Shannon, 1979). Visualmente, o cálculo dentário apresenta-se como uma massa de coloração amarelo-acastanhado e de textura granulosa (Coignoul & Cheville, 1984) (Figura 1). Vários estudos verificaram que, nos canídeos, a deposição de cálculo dentário é superior ao nível da superfície labial/vestibular dos dentes principalmente nos dentes pré-molares, seguidos dos molares e dos incisivos, e na maxila (Kyllar & Witter, 2005; Sorensen, Løe & Ramfjord, 1980; Telhado *et al.*, 2004).

Figura 1 - Cálculo dentário supragengival em cão, aspecto macroscópico. (Original).



Relativamente à sua composição microbiológica, o cálculo dentário assemelha-se à placa bacteriana após a maturação, embora possua um menor número de bactérias viáveis, que estão presentes sobretudo nos canais internos e nas lacunas do cálculo (Gorrel & Nind, 2008; Moolya *et al.*, 2010). Por si só o cálculo dentário não é irritante para a gengiva uma vez que não existe correlação entre o grau de formação de cálculo e a periodontite (Gorrel, 1998b; Kyllar & Witter, 2005). Todavia, constitui uma superfície de retenção bacteriana que permite o constante contacto destes microrganismos com os tecidos gengivais (Bernimoulin, 2003; Gorrel, 1998b).

## 2.4 Patogénese

### 2.4.1 Gingivite

A doença periodontal inicia-se com a gengivite (Niemic, 2008a; Sowkup, 2010). Segundo a *American Animal Hospital Association* (AAHA), a gengivite é uma inflamação dos tecidos gengivais, visível ou não a nível macroscópico, na qual não existe perda das estruturas que conferem suporte ao dente (Holmstrom *et al.*, 2013).

Nos canídeos, à excepção dos que possuem mucosas pigmentadas, a gengiva saudável caracteriza-se por apresentar uma coloração rosada, consistência firme, superfície regular e bordo gengival fino (Kinane, 2001; Niemic, 2008a). A nível histológico a gengiva saudável apresenta infiltração de células inflamatórias, especialmente de neutrófilos, devido ao constante contacto com microrganismos presentes na cavidade oral (Attström, Graf-de Beer & Schroeder, 1975; Kinane, 2001).

Vários estudos comprovam que a deposição de placa bacteriana, mesmo numa fase inicial, leva ao desenvolvimento duma resposta inflamatória por parte da gengiva (Ericsson, Berglundh, Marinello, Lijnenberg & Lindhe, 1991; Kahnberg, Lindhe & Helldén, 1976; Lindhe *et al.*, 1975; Payne, Page, Ogilvie & Hall, 1975). Na presença de gengivite a composição da placa bacteriana apresenta sobretudo cocos Gram positivos, numa fase inicial. Na fase avançada da gengivite a microbiota que compõe a placa dentária sofre alteração da sua composição, com aumento do número de microrganismos bacilos Gram negativos e predominantemente anaeróbios (Syed *et al.*, 1980b; Sowkup, 2010). Estes microrganismos produzem enzimas (proteases), toxinas e excretam produtos metabólicos tóxicos (amónia, indol, hidrogénio, ácido butírico e sulfido hidrogénio), que lesionam directamente os tecidos gengivais (Ding *et al.*, 1997; Gorrel, 1998b; Listgarten, 1987, 1988; van Steenbergern, van der Mispel & de Graaff, 1986). Por outro lado, estes produtos bacterianos activam a resposta imunitária do hospedeiro, o que contribui para a lesão dos tecidos gengivais. (Gorrel, 1998b). Assim, este estadio da doença periodontal caracteriza-se pela presença de polimorfonucleares neutrófilos e linfócitos, juntamente com mediadores inflamatórios (bradicinina, prostaglandinas, histamina, entre outros) que induzem vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular, destruição do colagénio tecidular e quimiotaxia de células inflamatórias (Salvi & Lang, 2005; Schroeder, Graf-de-Beer, & Attström, 1975; Sowkup, 2010;). A nível clínico a gengivite caracteriza-se pela presença de eritema, edema, hemorragia fácil à estimulação e halitose (Figura 2) (Ericsson *et al.*, 1991; Sowkup, 2010). A gengivite é o único estadio da doença periodontal reversível, por eliminação da sua etiologia (Sowkup, 2010).

Figura 2 - Gingivite em cão. (Original).



#### 2.4.2 Periodontite

O quadro clínico de gengivite pode evoluir para periodontite, mas tal não ocorre em todos os pacientes, sendo a evolução subjectiva (Gaengler & Hoffmann, 1996b; Gorrel, 2008). Segundo a AAHA, a periodontite é um processo inflamatório com destruição dos tecidos que conferem suporte ao dente, o periodonto, incluindo a gengiva, o ligamento periodontal, o cimento e o osso alveolar (Holmstrom *et al.*, 2013).

Os mecanismos da patogénese da doença periodontal não estão, ainda, perfeitamente esclarecidos, mas sabe-se que estão envolvidos os microrganismos presentes na placa bacteriana e os seus produtos de metabolismo, que levam à activação de uma resposta inflamatória pelo hospedeiro (Gorrel, 1998b; Wilson, Reddi, & Henderson, 1996). Na resposta imune inata estão implicados macrófagos, células epiteliais, fibroblastos e osteoblastos, que pela produção de interleucina 1 (IL-1) induzem outras citocinas (Graves, 1999). Em resposta a lipossacáridos bacterianos (LPS) da membrana de bactérias Gram negativas, macrófagos produzem mediadores inflamatórios, como interleucinas (IL-1 $\beta$  e IL-6), prostaglandina E2 (PGE2) e factor de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ) que estão implicados na destruição dos tecidos periodontais (Di Benedetto, Gigante, Colucci & Grano, 2013; Graves, 1999; Holmlund, Hånström & Lerner, 2004). Posteriormente é activada a resposta imune adquirida, na qual os microrganismos que compõem a placa dentária e antígenos são apresentados pelas células dendríticas às células linfocíticas B e T (Cutler & Jotwani, 2004). A activação de uma resposta pelos linfócitos B conduz à sua diferenciação em plasmócitos e à produção de anticorpos. Em comparação com a gengivite, a periodontite caracteriza-se por uma predominância de linfócitos B. Em conjunto, estes fenómenos são responsáveis por destruição do tecido conjuntivo e reabsorção óssea (Di Benedetto *et al.*, 2013).

A destruição do periodonto leva à formação de bolsas periodontais, que podem ser classificadas como supra-alveolares, em que o limite inferior da bolsa periodontal se



encontra coronal ao osso alveolar adjacente, ou infra- ou sub-alveolares, nas quais este limite inferior se localiza apicalmente ao osso alveolar adjacente. O padrão de perda óssea tem relação com o tipo de bolsa periodontal. A perda óssea horizontal perpendicular relativamente ao eixo longo do dente encontra-se associada às bolsas periodontais supra-alveolares, uma vez que em geral também se verifica recessão gengival. A perda óssea vertical, oblíqua em relação ao eixo longo do dente, acompanhando as raízes dentárias, está frequentemente associada às bolsas sub-alveolares (Gorrel, 2008; Sowkup, 2010).

A progressão da doença periodontal não é contínua, apresentando períodos activos e de quiescência. Na fase activa a reacção inflamatória leva a um aumento célere da profundidade das bolsas periodontais, pois verifica-se destruição das fibras que compõem o ligamento periodontal e reabsorção de osso alveolar. Pelo contrário, na fase quiescente ou inactiva, que predomina por períodos de tempo mais longos, não existem evidências clínicas nem radiográficas de evolução da doença periodontal (Gorrel, 1998b, 2008).

Os animais com periodontite apresentam sinais clínicos como dor, sialorreia, halitose, relutância em comer, hemorragia gengival, recessão gengival, úlceras das membranas mucosas, exsudado purulento e mobilidade dentária (Figura 3) (Dogan, Okumus, & Yanmaz, 2007).

Figura 3 - Periodontite em cão com recessão gengival, exposição das furcas dentárias, exsudado purulento, cálculo dentário e alguns dentes ausentes. (Original).



## **2.5 Diagnóstico e estadiamento**

### **2.5.1 Exame clínico**

O exame da cavidade oral do canídeo deve integrar o exame físico geral nas consultas de rotina da clínica veterinária dos pequenos animais. Todas as anomalias detectadas durante o exame clínico oral devem ser registadas numa ficha dentária, sendo o ideal que uma pessoa proceda ao exame, enquanto outra toma nota dos dados clínicos (Hernandez, 2007b). Para tal encontram-se disponíveis fichas clínicas dentárias, nas quais deve constar: um esquema da dentição para assinalar todas as alterações; um espaço para tirar notas e incluir exames de diagnóstico adicionais, tais como radiografias (Gorrel, 2008).

O exame clínico dentário inicia-se com a anamnese, incluindo tipo de dieta, hábitos comportamentais como por exemplo roer, se foi efectuado ou está de momento a fazer algum procedimento ou tratamento do foro dentário, problemas médicos diagnosticados no passado ou actuais e se faz alguma medicação (Holmstrom *et al.*, 2013).

O exame clínico oral inicia-se com o animal consciente com observação da cavidade oral, detecção de assimetrias na face, avaliação do limite de abertura e possível dor da articulação temporo-mandibular, palpação das glândulas salivares e dos linfonodos submandibulares. Para avaliação da cavidade oral deve fazer-se a retracção dos lábios para visualizar as mucosas (coloração, textura, presença de úlceras) e a face vestibular dos dentes (dentes ausentes, fracturas, recessão gengival). Recomenda-se a avaliação da oclusão com o animal consciente, existindo sobreposição dos dentes incisivos maxilares aos incisivos mandibulares na oclusão normal, contudo existindo variações que são aceitáveis de acordo com a raça (Gorrel, 2008; Hernandez, 2007b; Holmstrom *et al.*, 2013). Esta primeira avaliação com o animal consciente poderá ser suficiente para fazer um diagnóstico clínico e instituir um tratamento preliminar, mas apenas se poderá fazer a confirmação com um exame oral sob anestesia (Crossley, 2006).

Com o animal anestesiado, o exame clínico dentário prossegue com o exame da orofaringe, lábios, bochechas, membranas mucosas, palato duro, pavimento da boca, língua e dentes (Gorrel, 2008; Hernandez, 2007b; Holmstrom *et al.*, 2013). A presença de cálculo sobre a superfície dentária é avaliada relativamente à extensão e à espessura, existindo sistemas standardizados para classificar o índice de cálculo dentário. Caso exista uma acumulação de cálculo dentário que interferira na avaliação do periodonto, recomenda-se a sua remoção antes de se prosseguir com o exame oral (Gorrel, 2008; Hernandez, 2007b; Ingham & Gorrel, 1999).

A presença e grau de gengivite são avaliados com base na presença de eritema, edema, alterações na coloração, presença de úlceras e hemorragia à sondagem do sulco gengival, existindo índices para classificar a gravidade da inflamação (Ingham & Gorrel, 1999; Hernandez, 2007b).

A avaliação da profundidade do sulco gengival é medida pela profundidade da sondagem periodontal (PSP). Esta realiza-se com o auxílio de uma sonda periodontal graduada, que possui um sistema de marcação milimétrica. A PSP corresponde à distância que vai desde a margem gengival até ao ponto mais apical alcançado pela sonda periodontal, quando inserida no sulco gengival (Figura 4). Nos cães recomenda-se um mínimo de seis medições em diferentes pontos do dente. O valor de PSP normal no cão é de 1 a 3 mm (Bellows, 2008; Gioso, 2011b; Sowkup, 2010).

Figura 4- Sonda periodontal na face palatina de dente incisivo, com PSP de 7mm. (Adaptado de Bellows, 2010).



Na doença periodontal deverá ter-se em conta que a gengiva pode não sofrer alterações em altura, mas há destruição do ligamento periodontal no sentido apical, criando uma bolsa periodontal (Niemic, 2008a). Noutras situações, ocorre recessão gengival, ou seja, migração apical da margem gengival livre, e a PSP pode estar dentro dos valores normais embora o ligamento periodontal e osso alveolar não se encontrem. A recessão gengival deve ser medida com uma sonda periodontal milimétrica graduada, correspondendo à distância entre a junção amelocimentária e a margem da gengiva livre. Como consequência da recessão gengival, pode existir envolvimento e exposição das raízes dentárias. Na exposição da furca dos dentes multiradiculares, ou seja, da zona anatómica em que as raízes do dente divergem, verifica-se destruição do osso entre as raízes. A avaliação do grau de exposição da furca subdivide-se em vários graus, que vão desde a exposição inicial em que a furca pode ser sentida com a sonda periodontal até à exposição total em que a sonda periodontal transpassa a região da furca na direcção vestibulopalatina (Bellows, 2008; Hernandez, 2007b; Niemic, 2008a).

O nível clínico de inserção (NCI) é uma medida mais exacta da destruição do ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar. Esta medida, realizada com o auxílio de uma sonda periodontal milimétrica graduada, corresponde à distância entre a junção amelocimentária e o limite apical da bolsa periodontal (Gorrel & Nind, 2008).

Com a progressão da doença periodontal verifica-se um aumento da mobilidade dentária. Os dentes saudáveis fisiologicamente apresentam uma mobilidade dentária inferior a 1 mm. Valores de movimento horizontal acima da medida de mobilidade dentária normal e presença de movimento vertical são considerados patológicos (Bellows, 2008; Hernandez, 2007b).

### 2.5.2 Avaliação radiográfica

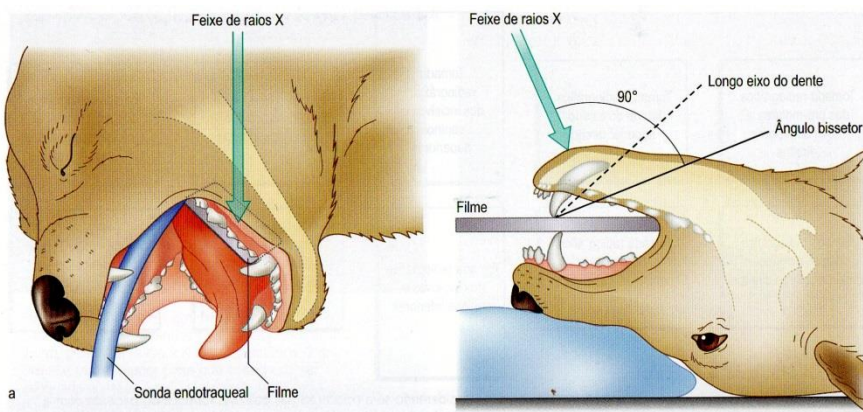
A radiologia desempenha um papel importante como exame complementar de diagnóstico na saúde oral dos canídeos, no suporte da decisão a tomar quanto ao tratamento a instituir ou procedimentos a realizar e, posteriormente, na avaliação do sucesso terapêutico e progressão da doença (Gorrel, 2008).

Para que este exame complementar tenha valor de diagnóstico, o animal tem de estar sob anestesia geral. O cálculo dentário é radiodenso e pode ocultar lesões, pelo que deverá ser removido previamente (Gorrel, 2008).

No diagnóstico radiológico das afecções da cavidade oral é importante o uso de um aparelho de raios X dentário, devido à sua mobilidade e superior qualidade de imagem (Caiafa, 2007). No que concerne às películas radiográficas, aconselham-se as películas radiográficas intraorais específicas para uso em odontologia. Estas películas apresentam uma maior flexibilidade que facilita o seu posicionamento e possibilitam a obtenção de imagens radiográficas com maior detalhe (Bellows, 2008).

As técnicas radiográficas subdividem-se em intraorais e extraorais, conforme o posicionamento da película radiográfica. As radiografias intra-orais são preferidas e as duas técnicas mais utilizadas são a técnica do paralelismo e a técnica da bissetriz. A técnica do paralelismo está indicada para radiografar os dentes pré-molares e molares, posicionando-se a película radiográfica paralela ao eixo longo do dente e perpendicular ao feixe de raios X (Figura 5). Na técnica da bissetriz é traçada uma linha imaginária no ponto médio da película radiográfica e o eixo longo do dente, obtendo-se o ângulo bissector. O feixe dos raios X incide perpendicular ao ângulo bissector (Figura 5) (Caiafa, 2007; Gorrel, 2008).

Figura 5 - Técnica do paralelismo (à esquerda) e da bissetriz (à direita). (Adaptado de Gorrel, 2004).



As técnicas radiográficas extraorais são menos indicadas para o exame clínico dentário, uma vez que há sobreposição das várias estruturas anatómicas do lado contralateral. Esta técnica auxilia a obtenção de um diagnóstico de anomalias na articulação temporo-mandibular e de alterações ósseas da maxila e da mandíbula (Caiafa, 2007; Gorrel, 2008).

A radiografia é um importante auxiliar de diagnóstico na doença periodontal, sobretudo para avaliar o grau e a morfologia de perda óssea, um dos factores que entra na classificação dos estádios da doença periodontal. A doença periodontal radiograficamente pode traduzir-se como alteração da continuidade da lâmina dura, diminuição da margem do osso alveolar, diminuição da radiopacidade a nível das furcas dentárias e perda óssea vertical ou horizontal (Sowkup, 2010).

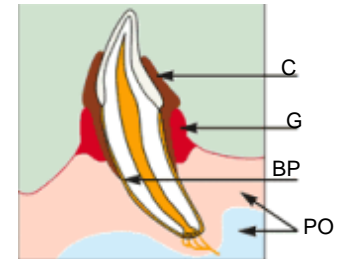
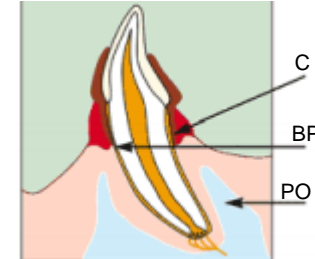
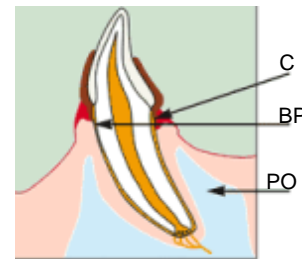
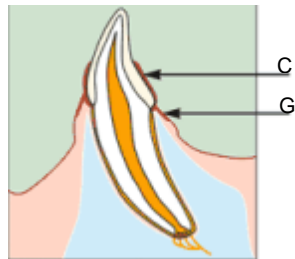
### **2.5.3 Estadiamento**

O estadiamento da doença periodontal subdivide-se em: gengiva saudável, gengivite, periodontite ligeira, periodontite moderada e periodontite grave (Tabela 1). Segundo o índice veterinário da doença periodontal, o estadiamento deve ser realizado para cada dente individualmente, com base na perda de adesão dentária (PAD). A PAD é medida com a sonda periodontal, expressa em percentagem e é importante na determinação do prognóstico (Sowkup, 2010).

Tabela 1 – Estádios da doença periodontal. (Adaptado de Johnston, 2002; Sowkup, 2010; Wolf, Rateitschak, & Rateitschak, 2005)

	Gengiva saudável	Gengivite	Periodontite ligeira	Periodontite moderada	Periodontite grave
Inflamação gengival	Ausente	Leve	Leve a moderada	Moderada a grave	Grave
Recessão gengival	Ausente	Ausente	Variável (possível recessão gengival, bolsa periodontal ou ambos)	Presente, exposição da furca parcial em dentes multiradiculares	Presente, exposição da furca total em dentes multiradiculares
Sulco gengival	<3mm	<3mm	<5mm	<7mm	>7mm
Mobilidade dentária	Ausente	Ausente	Ausente	Presente	Presente e acentuada
Perda de adesão dentária	0%	0%	≤ 25%	25-50%	≥ 50%

Representação esquemática



Legenda: C- cálculo dentário; G- gengivite; BP- bolsa periodontal; PO- perda óssea;

## 2.6 Complicações locais e sistémicas

Niemic (2008a) defende que a complicação local mais evidente para os proprietários de cães é a perda de dentes. Num estudo realizado por Kyllar & Witter (2005) concluiu-se que os dentes mais afectados são os primeiros pré-molares e que existe uma correlação directa da perda de dentes por canídeos com a gravidade da doença periodontal.

A fístula oronasal é uma sequela local da doença periodontal, sendo mais frequente em canídeos de raças pequena e miniatura, e em animais com mais idade, nos quais existe progressão da doença periodontal para a superfície palatina a nível dos dentes da maxila, gerando uma comunicação entre as cavidades oral e nasal (Figura 6) (Niemic, 2008a; Tasker *et al.*, 1999).

Figura 6 - Fístula infra-orbitária em cão. (Original).



Outra potencial complicação local são as lesões perio-endo nos dentes multirradiculares, com progressão apical da infecção bacteriana do periodonto para a raiz dentária. No caso de um dente multirradicular há ainda possibilidade de progressão para as outras raízes através da câmara pulpar. Secundariamente à doença periodontal podem ocorrer fracturas ósseas patológicas, uma vez que existe perda crónica do suporte periodontal, sendo mais frequentes na região dos dentes molares (Lopes *et al.*, 2005; Niemic, 2008a). A osteomielite crónica também se apresenta como uma consequência local (Stead, 1984). A doença periodontal pode igualmente estender-se aos tecidos da órbita, pela proximidade do ápice das raízes dos quartos pré-molares e molares da maxila (Guerreiro, Appelboam & Lowe, 2013; Niemic, 2008a). Estudos recentes têm avaliado a doença periodontal como um factor de risco para neoplasias orais (Rosenquist *et al.*, 2005).

A doença periodontal tem ainda repercussões a nível sistémico. Por um lado a inflamação da gengiva e tecidos periodontais permite a entrada de microrganismos em circulação na corrente sanguínea, por outro existe uma resposta inflamatória a nível sistémico com



aumento da concentração de citocinas pró-inflamatórias (D'Aiuto *et al.*, 2004; Niemiec, 2008a; Sowkup, 2010).

Em medicina veterinária, à semelhança da medicina humana, pensa-se que a doença periodontal concorra para o aparecimento de doenças respiratórias, cardíacas, renais, hepáticas, arteriosclerose e fetos com baixo peso vivo (Pavlica, 2006; Sowkup, 2010). Num estudo realizado por Pavlica *et al.* (2008), durante a realização de necrópsias a cães com doença periodontal, foram detectadas alterações nas válvulas atrioventriculares, arteriosclerose, bem como lesões inflamatórias a nível renal e hepático. Glickman, Glickman, Moore, Goldstein e Lewis (2009) confirmaram a associação entre o risco de desenvolver doenças cardiovasculares, como a endocardite e a cardiomiopatia, e a presença de doença periodontal em cães. O mesmo autor realizou um estudo retrospectivo com dados do período de 2002 a 2008, e verificou que um aumento da gravidade da doença periodontal em cães está associado a uma maior incidência de doença renal crónica (Glickman *et al.*, 2011)

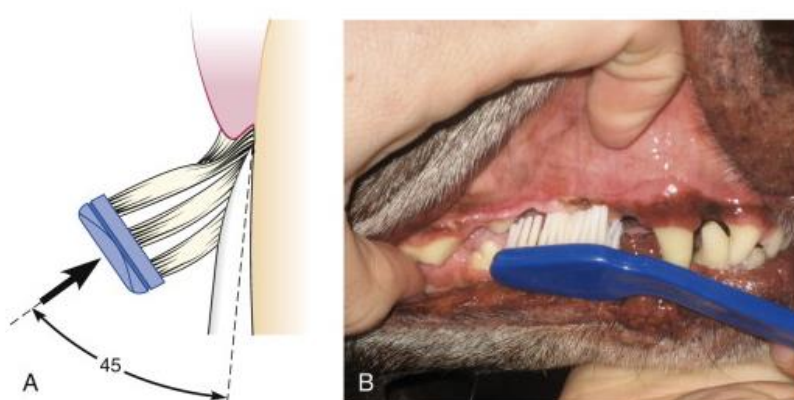
## **2.7 Prevenção**

A prevenção diária por parte do proprietário do canídeo é crucial no controlo da doença periodontal e deve ser discutida com base não só no estágio da doença periodontal, mas também na disponibilidade e eficácia dos produtos disponíveis, na capacidade e disponibilidade do proprietário e no nível de cooperação do cão (Burns & Logan, 2007).

A escovagem dos dentes é um método activo no controlo da placa bacteriana, na medida em que a sua acção mecânica interfere com a deposição da placa dentária e contribui para a remoção física da mesma (Burns & Logan, 2007; Eurides *et al.*, 2004; Niemiec, 2008b). Vários estudos em canídeos comprovam que a escovagem diária dos dentes previne a acumulação de placa bacteriana e promove a manutenção de gengivas saudáveis (Corba, Jansen & Fidler, 1986; Lindhe *et al.*, 1975; Tromp, Jansen & Pilot, 1986). Uma das técnicas de escovagem dos dentes descrita é a técnica de Bass, na qual se efectuam movimentos circulares com a escova de dentes, com uma inclinação de 45º em relação à margem gengival (Figura 7) (Niemiec, 2008b; Sowkup, 2010).



Figura 7 - Técnica de escovagem de dentes de Bass em cão em esquema (A) e fotografia (B). (Adaptado de Perry, 2006).



Várias pastas dentífricas estão disponíveis para uso veterinário, caracterizadas por possuírem enzimas antimicrobianas (lactoperoxidase, glucose oxidase, lisosima e lactoferrina) e serem mais palatáveis para os animais (Hale, 2003). As pastas de dentes de medicina humana não estão recomendadas para cães, porque possuem elevadas concentrações de fluoretos na sua composição, o que pode originar problemas de toxicidade aguda ou crônica ao serem deglutidas pelo animal. Quanto às escovas de dentes, existem vários modelos desenhados especialmente para medicina veterinária, mas o uso de uma escova de dentes infantil de textura suave é igualmente eficaz (Niemic, 2008b). Nenhum modelo de escova está descrito como mais vantajoso (Claydon & Addy, 1996). Segundo Burns & Logan (2007) em canídeos o uso de dedeiras revelou-se tão eficaz na remoção de placa bacteriana como a escova de dentes, pelo que o proprietário pode recorrer-se delas. A frequência de escovagem de dentes ideal em cães é uma vez ao dia, sendo essencial em cães com doença periodontal, mas poderá ser reduzida para o mínimo de três vezes por semana em cães com uma boa saúde oral (Niemic, 2008b). O ideal será incluir a escovagem de dentes na rotina diária do animal desde os primeiros anos de vida (Burns & Logan, 2007). A dieta também tem uma acção positiva na saúde oral e é facilmente aceite pelos proprietários, sobretudo porque entra na rotina diária do cão, sendo importante na adesão a longo prazo (Niemic, 2008b). Segundo Gawor *et al.* (2006), animais alimentados com uma ração comercial seca demonstraram uma menor prevalência de cálculo dentário, linfadenopatia e doença periodontal, comparativamente a cães alimentados com rações preparadas em casa e com rações comerciais húmidas. Encontram-se disponíveis várias dietas dirigidas para a doença periodontal que, pela sua textura têm uma acção mecânica e pela presença de polifosfatos têm uma acção química devido aos quelantes do cálcio, conduzindo a uma menor formação de cálculo dentário (Carciofi, Bazolli, Barbudo, Zanni & Carvalho, 2007; Gorrel, 1998b; Paiva *et al.*, 2007). Brinquedos e objectos comestíveis com acção direccionada para a saúde oral, demonstraram também ser eficazes na remoção de placa e cálculo dentários e na diminuição da inflamação gengival (Bjone, Brown, Billingham,

Harris, & Genity, 2005; Capik, 2010; Harvey, Shofer & Laster, 1996; Lage, Lausen, Tracy, & Allred, 1990; Stookey, 2009). A acção dos brinquedos e objectos comestíveis tem um efeito localizado na dentição dos canídeos, sendo mais eficazes a nível dos dentes pré-molares, pelo que deve ser complementada com a escovagem de dentes (Capík, 2010; Niemiec, 2008b). Na selecção de uma dieta específica ou de brinquedos e objectos comestíveis para a higiene dentária, deve procurar-se recomendar produtos com eficácia demonstrada ou aprovados pela *Veterinary Oral Health Council* (VOHC) (Gorrel & Nind, 2008; Hernandez, 2007a).

Os selantes dentários aderem electrostaticamente à superfície dos dentes funcionando como uma barreira física, impedindo a deposição de placa e cálculo dentários. A primeira aplicação é efectuada profissionalmente pelo médico veterinário com um polímero de elevada viscosidade, seguido de manutenção com aplicações semanais pelo proprietário usando um selante de viscosidade mais reduzida (Gengler, Kunkle & Larsen, 2005; Niemiec, 2008b; Sowkup, 2010).

A vacinação é outra opção na prevenção da doença periodontal em canídeos. Uma vacina trivalente foi desenvolvida direccionada contra os agentes patogénicos mais comumente isolados na periodontite em canídeos domésticos: *Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas salivosa* e *Porphyromonas denticanis* (Niemiec, 2008b; Sowkup, 2010). Estudos científicos comprovaram a eficácia desta vacina, quer com uso em ratos como modelo experimental para periodontite, quer em cães (Hardham *et al.*, 2005; Pfizer Inc: Data on file, Study No. 3860R-60-03-198).

A marcação de futuras consultas para reavaliação também deve ser discutida com base na gravidade da doença periodontal. No mínimo deverá ser feita pelo menos uma avaliação anual em cães com uma boa saúde oral, mas aconselha-se que este tempo seja reduzido para 6 meses em casos com gengivite, ou mesmo para 1 a 3 meses consoante a gravidade da periodontite. Nas consultas de revisão, além do exame oral deve analisar-se a cooperação do proprietário, rever o plano de tratamento e redefinir o prognóstico (Holmstrom *et al.*, 2013).

## **2.8 Terapêutica**

### **2.8.1 Destartarização e polimento dentários**

A remoção da placa bacteriana e do cálculo supra e subgengival em canídeos é realizada através da destartarização dentária manual ou mecânica (Niemiec, 2008b). Este procedimento dentário é realizado com o animal sob anestesia geral com intubação endotraqueal e colocação de uma compressa a nível da faringe, para prevenir a inalação de aerossóis e aspiração de fluidos de irrigação. O paciente é posicionado numa superfície que permita o escoamento de água, prevenindo a hipotermia. A cabeça e parte cervical do cão devem ser estabilizados durante a destartarização dentária e, quando for necessário

reposicionar o mesmo, deve desacoplar-se temporariamente o tubo endotraqueal, evitando traumas. (Hernandez, 2007a; Holmstrom *et al.*, 2013).

Na destartarização manual a remoção do cálculo dentário inicia-se a nível supragengival, com uso de um extractor de cálculo manual, com lâmina de bordos cortantes e ponta pontiaguda. O extractor é colocado junto à margem gengival, paralelamente ao eixo longo do dente e efectuem-se movimentos firmes no sentido coronal. O cálculo subgengival é removido manualmente com o uso de uma cureta que, ao contrário do extractor de cálculo manual, possui uma lâmina com um dorso e ponta rombos de modo a não lesionar os tecidos gengivais. A cureta é introduzida cuidadosamente no sulco gengival ou bolsa periodontal com o dorso virado no sentido da gengiva de modo a evitar o trauma gengival. Depois de inserida, o bordo cortante da lâmina da cureta é posicionado paralelamente ao eixo maior do dente e efectuem-se movimentos firmes no sentido coronal (Hernandez, 2007a; Niemiec, 2008b Sowkup, 2010).

A destartarização dentária mecânica pode ser realizada com aparelhos sónicos ou ultrasónicos, que possuem a vantagem de reduzir o tempo de trabalho comparativamente à destartarização manual (Patil, Kullol, Savita & Thanawala, 2012).

Os aparelhos de destartarização sónicos funcionam por vibração mecânica através de um sistema de pressão de ar. A sua frequência de vibração é entre os 2 e os 6 500 Hz (Oda, Nitte, Setoguchi, Izumi & Ishikawa, 2004).

Os aparelhos ultrasónicos têm uma frequência de vibração superior aos aparelhos sónicos, entre os 20 000 e os 45 000 Hz. Estes aparelhos de destartarização subdividem-se em piezoeléctricos e magnetorestritivos. Nos aparelhos ultrasónicos piezoeléctricos a vibração da ponta de trabalho é activada pela alteração da dimensão de cristais à passagem de uma corrente eléctrica pulsátil. Nos aparelhos ultra-sónicos magnetorestritivos a vibração da ponta de trabalho ocorre por contracção e expansão de uma bobina, em resposta a um campo electromagnético formado por impulsos eléctricos. Os aparelhos piezoeléctricos possuem um padrão de vibração da ponta de trabalho linear e os magnetorestritivos um padrão de vibração elíptico ou circular (Oda *et al.*, 2004). Uma característica única dos aparelhos ultrasónicos é a sua acção antibacteriana pelo fenómeno de cavitação, em que há a formação de bolhas de água microscópicas que implodem, promovendo a libertação de energia com a formação de ondas de choque, que afectam a integridade da parede bacteriana e consequentemente conduzem à morte celular bacteriana (Bellows, 2008; Hernandez, 2007a; Niemiec, 2008b).

O uso de aparelhos de destartarização mecânicos gera calor, com aumento da temperatura do dente, que pode causar lesões térmicas iatrogénicas irreversíveis na polpa dentária (Lea, Landini & Walmsley, 2004; Zach & Cohen, 1965). Na utilização de um aparelho de

destartarização mecânica a porção lateral da ponta do instrumento, últimos 1 a 3 mm, deve ser aplicada com pressão moderada sobre a superfície dentária em constante movimento (Figura 8). O tempo máximo de destratarização em cada dente limita-se a um máximo de 15 segundos a nível supragengival. (Gagnot, Poblete, & Michel, 2004; Kesel, 2000; Niemiec, 2008b; Sowkup, 2010). Incorporado na ponta de trabalho do instrumento de destartarização existe um emissor de água de refrigeração que é essencial para regular o calor gerado na interface da ponta do destartarizador e do dente, além de auxiliar na remoção dos detritos de cálculo gerados (Gioso, 2011b; Sowkup, 2010). Um aumento do fluxo de água de refrigeração reduz o calor gerado pelo contacto da ponta do destartarizador com a superfície do dente, sendo recomendado um fluxo de água de refrigeração mínimo de 20ml/min (Lea *et al.*, 2004).

Figura 8- Destartarização supragengival em cão com modelo mecânico ultrassónico piezoeléctrico. (Original).



Os instrumentos mecânicos de destartarização sónicos e ultrasónicos tradicionais não podem ser utilizados na remoção do cálculo subgengival, porque podem provocar lesões iatrogénicas térmicas na gengiva e na polpa dentária. Com vista a evitar essas lesões foram desenvolvidas pontas de destartarização que, pelo seu formato, são mais seguras e eficazes, apresentando pontas com um diâmetro mais reduzido, rombas e revestidas a diamante, juntamente com contra-ângulo que possibilita a inserção em bolsas periodontais profundas (Beuchat *et al.*, 2001; Gioso, 2011b; Niemiec, 2008b; Oda *et al.*, 2004; Sowkup, 2010).

Na comparação de resultados clínicos e microbiológicos, relativamente à remoção da placa e cálculo dentários na prática da clínica da medicina dentária humana, Ioannou *et al.* (2009) concluíram que, quer o uso de instrumentos manuais, quer de instrumentos mecânicos, são igualmente eficazes.

Na destartarização dentária manual e mecânica criam-se lesões microscópicas sobre o esmalte dentário, embora em menor grau do que com a destartarização manual, segundo o estudo de Patil *et al.*, (2012). As irregularidades criadas pela destartarização no esmalte

dentário facilitam a deposição da placa bacteriana no futuro, sendo necessário realizar o polimento da superfície dentária após a destartarização (Kesel, 2000). O polimento efectua-se com a aplicação de uma pasta de polimento, com o auxílio de uma taça de borracha em baixa rotação (< 3 000 rpm). Cada dente pode ser polido pelo período máximo de 5 segundos para evitar sobreaquecimento do dente. (Gioso, 2011b; Hernandez, 2007a; Niemiec, 2008b).

Independentemente do grau de gravidade da doença periodontal em canídeos, existe um período de bacteriemia em qualquer destartarização dentário de rotina. A administração de antimicrobianos pode ser feita profilacticamente antes da intervenção oral, como prevenção de complicações secundárias infecciosas a nível local e sistémico (Lobprise, 2007; Maestre & Centelles, 2007; Maestre, Maestre & Santana, 2008; Nieves, Hartwig, Kinyon & Riedesel, 1997). Antes da realização da destartarização dentária deve-se avaliar o estado geral de saúde do canídeo, para identificar os que apresentam um risco mais elevado, tais como os pacientes portadores de doenças cardiovasculares ou num estágio de doença periodontal avançado (Cleland, 2000; Sowkup, 2010).

### **2.8.2 Terapêutica farmacológica: antimicrobianos, anti-sépticos e moduladores da resposta inflamatória do hospedeiro**

No tratamento da doença periodontal em canídeos recorre-se ao uso de antimicrobianos em animais que não respondem ao procedimento mecânico de eliminação da placa e cálculo dentários, aos casos de periodontite recorrente ou refractária, infecções periodontais agudas com presença de sinais sistémicos e como coadjuvante do tratamento periodontal cirúrgico. Profilacticamente recorre-se também ao seu uso em pacientes que não conseguem combater a bacteriemia induzida pelos tratamentos periodontais (Biscarde, Andrade, Bittencourt & Ribeiro, 2010; Drisko, 2001; Slots, 2004). Os riscos da administração de antimicrobianos são o aparecimento de resistências bacterianas, reacções adversas e interacções com outros fármacos (Addy & Martin, 2003).

Na utilização de antimicrobianos administrados por via sistémica, estes devem atingir concentrações terapêuticas ao nível das bolsas periodontais e manter as mesmas durante um período de tempo prolongado (Cleland, 2000). Em medicina veterinária os antimicrobianos usados com mais frequência são: associação de amoxicilina com ácido clavulânico, clindamicina, doxiciclina e metronidazol (Sowkup, 2010).

Na tabela 2 estão descritos os antimicrobianos usados com maior frequência no tratamento da doença periodontal, as suas doses e frequência de administração.

Tabela 2- Antimicrobianos utilizados no tratamento de doença periodontal. (Adaptado de Niemic, 2013).

Antimicrobiano	Dose	Via de Administração	Frequência de administração
<b>Amoxicilina com ácido clavulânico</b>	11-22 mg/kg	PO	BID
<b>Clindamicina</b>	5,5-33 mg/kg	PO	BID
<b>Doxiciclina</b>	3-5 mg/kg	PO	BID
<b>Metronidazol</b>	25-50 mg/kg	PO	BID
<b>Tetraciclina</b>	22 mg/kg	PO	TID

A amoxicilina é uma penicilina, bactericida, que actua por inibição da síntese da parede celular. A associação de amoxicilina com ácido clavulânico, um inibidor das betalactamases, aumenta o espectro de actividade, sendo activa contra microrganismos aeróbios Gram positivos e Gram negativos e alguns anaeróbios estritos (Plumb, 2008; Ramsey, 2011).

A clindamicina é um antimicrobiano pertencente à classe das lincosamidas, bacteriostático ou bactericida, dependendo o seu efeito da concentração no local de acção e da susceptibilidade dos microrganismos. Apresenta um espectro de acção contra cocos Gram positivos aeróbios, alguns anaeróbios estritos e protozoários (Plumb 2008; Ramsey, 2011).

A doxiciclina é uma tetraciclina, antimicrobiano bacteriostático de largo espectro, eficaz contra bactérias Gram positivas e, em menor grau, contra bactérias Gram negativas. Actua por inibição da síntese proteica, ligando-se à subunidade ribossomal 30s (Plumb, 2008; Ramsey, 2011)

O metronidazole é um antimicrobiano bactericida contra microrganismos anaeróbios, o seu mecanismo de acção não é totalmente conhecido, mas pensa-se que afecte o DNA bacteriano (Plumb 2008; Ramsey, 2011).

O uso de associações de antimicrobianos aumenta o seu espectro de acção, o efeito sinérgico contra as bactérias permite o uso de menores doses de antimicrobianos do que isoladamente e previne a emergência de resistências bacterianas (Lindhe, 2008) A associação de amoxicilina ou de cefalosporinas, com metronidazol encontra-se recomendada para infecções mistas graves, nas quais os principais agentes infecciosos sejam anaeróbios (Gorrel & Nind, 2008).

A aplicação de agentes microbianos a nível local encontra-se disponível e tem a vantagem de atingir elevadas concentrações terapêuticas a nível local sem absorção sistémica, limitando as resistências aos antimicrobianos (Sowkup, 2010). Um exemplo disso são as formulações em gel de tetraciclina, como a doxicilina (Figura 9), aplicáveis nas bolsas periodontais de canídeos com uma cânula e que, ao biodegradarem-se, vão expelir o princípio activo ao longo de várias semanas (Carmichael, 2007; Cleland, 2000; Lobprise, 2007).

Figura 9- Aplicação de antimicrobiano local com doxicilina em gel em cão. (Adaptado de Bellows, 2010).



Em medicina dentária humana tem sido descritas resistências das bactérias da microbiota oral aos antimicrobianos, nomeadamente aos  $\beta$ -lactâmicos, metronidazol e tetraciclina (Al-Haroni, Skaug & Al-Hebshi, 2005; Gaetti-Jardim Jr, Gaetti-Jardim, Lins, Oliveira & Semenoff, 2007; Veloo *et al.*, 2012). Em medicina veterinária, num estudo sobre o efeito da antibioterapia na microbiota da placa bacteriana, todos os microrganismos se revelaram resistentes ao metronidazol (Fonseca *et al.*, 2011).

Como terapêutica farmacológica auxiliar no tratamento da doença periodontal além dos antimicrobianos podem-se também utilizar antisépticos e moduladores da resposta inflamatória do hospedeiro. A clorexidina é um anti-séptico usado localmente, com efeito bactericida contra bactérias Gram positivas e negativas orais e viricida (Hernandez, 2007a). Vários estudos realizados sustentam que a clorexidina retarda a formação de placa bacteriana e o desenvolvimento de gengivite (Hamp, Lindhe, & Loe, 1973; Tepe *et al.*, 1983). Este anti-séptico oral fica retido nos tecidos gengivais e atinge concentrações antibacterianas por um período de 24 a 48 horas (Carmichael, 2007). Efeitos negativos ligados ao seu uso são: o aparecimento de descolorações amarelo-acastanhadas na superfície dentária, que pode ser solucionado através do polimento dentário; sabor

desagradável; custo e possibilidade de potenciar a formação de cálculo dentário. Em medicina veterinária existem várias formulações de clorexidina a 0,1-0,2%, disponíveis sobre a forma de solução de lavagem ou de gel (Burns & Logan, 2007; Hernandez, 2007a; Hull & Davies, 1972). Moduladores da resposta inflamatória do hospedeiro são adjuvantes no tratamento da doença periodontal. Os anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) inibem a formação de prostaglandinas, nomeadamente PGE2 que contribui para a destruição do periodonto (Preshaw, 2000; Sowkup, 2010). Estudos demonstram uma redução significativa da perda óssea com a administração de AINEs, mas necessitam de uma administração diária e por longos períodos de tempo (Howell *et al.*, 1991). Os bifosfonatos, geralmente usados no tratamento da osteoporose humana, promovem a diferenciação dos osteoblastos e inibem a activação dos osteoclastos (Preshaw, 2000; Sowkup, 2010). No tratamento da doença periodontal em canídeos estudos revelam que os bifosfonatos reduzem a reabsorção óssea, no entanto existem casos de necrose avascular da mandíbula secundários à sua administração (Allen & Burr, 2008; O'uchi *et al.*, 1998). Mais recentemente recorre-se à administração em dose sub-antimicrobiana de doxiciclina (2 mg/kg). Estudos demonstram uma inibição da reabsorção óssea e aumento do NIC, pela acção da doxiciclina na inibição da actividade das metaloproteinases matriciais, que degradam o colagénio (Bezerra, Brito, Ribeiro & Rocha, 2002; Kim *et al.*, 2013).

### **2.8.3 Terapêutica cirúrgica**

No tratamento da doença periodontal em canídeos a abordagem cirúrgica só deve ser considerada após a profilaxia periodontal (Legendre, 2006). Os principais objectivos da terapêutica cirúrgica são melhorar o acesso às raízes dentárias, estabelecer um sulco gengival para melhor controlo da doença periodontal, criar condições anatómicas a uma melhor higiene oral e a regeneração do periodonto destruído (Wang & Greenwell, 2001).

Dentro das técnicas cirúrgicas ressectivas destaca-se: i) gengivectomia indicada para resolução de bolsas periodontais supraalveolares e remodelação dos contornos gengivais, por exemplo em casos de hiperplasia gengival superiores a 2-3mm à sondagem; ii) o reposicionamento apical de enxertos, com ou sem ressecção óssea, com o objectivo de diminuir a profundidade de bolsas periodontais e facilitar o acesso à raiz e ao osso alveolar (Bellows, 2008; Carmichael, 2006; Legendre, 2006; Niemiec, 2008b).

Os procedimentos regenerativos têm por objectivo a reconstituição da arquitectura e função do periodonto: cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. Os enxertos ósseos podem ser do tipo autoenxertos, com origem no próprio paciente. Actuam via mecanismos de osteoproliferação, osteocondução e osteoindução. Nos enxertos alógenos, existem três tipos: osso esponjoso congelado, osso esponjoso desidratado congelado mineralizado e osso esponjoso desidratado congelado descalcificado, sendo este último o mais utilizado.



Também se encontram disponíveis materiais aloplásticos, constituídos por materiais sintéticos inertes, como a hidroxiapatite (Brunsvold & Melloning, 2000; Legendre, 2006; Sowkup, 2010). A regeneração tecidual guiada tem como fundamento o uso de uma membrana natural ou sintética, que é implantada no defeito periodontal. Inicialmente pensava-se que estas membranas bloqueavam a migração de células epiteliais e fibroblastos, que impediam a regeneração do ligamento periodontal. Mas actualmente defende-se que as membranas estabilizam o coágulo sanguíneo a nível do defeito periodontal, possibilitando a migração de células progenitoras para a formação de novo tecido periodontal (Carmichael, 2006; Reis, Borges & Carlos, 2011; Sowkup, 2010).

A última opção no tratamento da doença periodontal é a extracção dentária (Niemi, 2008b). A extracção dentária encontra-se recomendada em canídeos em que se preveja uma inadequada cooperação por parte dos proprietários a longo prazo, que possuam bolsas periodontais superiores a 6 mm, que apresentem exposição das furcas e tenham mobilidade aumentada (Gioso, 2011c).

### 3. Aerossóis dentários

#### 3.1 Aerossóis formados na destartarização dentária

A destartarização dentária apresenta alguns riscos, quer para o paciente, quer para o operador, como a indução de lesões iatrogénicas térmicas no dente e tecidos envolventes, a afecção de células sanguíneas pelo fenómeno de cavitação, a produção de aerossóis transmissores de agentes patogénicos e a possível afecção do operador a nível de destreza manual e audição. No entanto, as vantagens da destartarização dentária no tratamento da doença periodontal superam os aspectos negativos referidos (Trenter & Walmsley, 2003).

Vários procedimentos dentários dão origem à formação de gotículas e de aerossóis, porém a destartarização dentária com a utilização de aparelhos mecânicos, sobretudo os ultra-sónicos (Figura 10), destaca-se pela emissão de concentrações de aerossóis mais elevadas (Bennett *et al.*, 2000; Rautemaa, Nordberg, Wuolijoki-Saaristo, & Meurman, 2006).

Figura 10- Aerossóis e gotículas formadas na destartarização dentária de cão, com aparelho ultrasónico. (Adaptado de Bellows, 2010)



Define-se por aerossol um conjunto de partículas no estado sólido ou líquido em suspensão num gás (Hinds, 1999). Os microrganismos associados aos aerossóis e às gotículas geradas na destartarização têm origem no cálculo e placa bacterianas, na água de irrigação do aparelho de destartarização e na saliva e sangue do canídeo (Leggat & Kedjarune, 2001). Porém, a disseminação de microrganismos presentes na cavidade oral aquando duma destartarização dentária não se limita somente à dispersão indirecta pelas gotículas e aerossóis, mas abrange também a contaminação directa pela manipulação manual por parte do operador (Miller, Micik, Abel & Ryge, 1971). Os aerossóis são formados por partículas com uma dimensão inferior a 50  $\mu\text{m}$  e permanecem em suspensão no ar por períodos de tempo até 30 minutos, atingindo uma grande área de dispersão (Hinds, 1999; Leggat & Kedjarune, 2001; Micik, Miller, Mazzarella & Ryge, 1969; Maghlouth, Yousef & Bagieh, 2004). Pelas suas características, os aerossóis podem ser

inalados pelo cão e atingir as vias respiratórias inferiores e entrar em contacto com a pele e membranas mucosas da conjuntiva, da cavidade oral e do nariz (Kedjarune, Kukiattrakoon, Yapong, Chowanadisai & Leggat, 2000; Leggat & Kedjarune, 2001).

As gotículas, pelo contrário, têm dimensão entre 50 a 100  $\mu\text{m}$ , pelo que são macroscopicamente visíveis. Devido à sua massa e energia cinética, a sua trajectória é bastante limitada acabando por rapidamente se precipitarem nas superfícies circundantes e no vestuário e cabelo do operador (Kedjarune *et al.*, 2000; Leggat & Kedjarune, 2001; Miller *et al.*, 1971). A dispersão das gotículas, segundo o clássico estudo de Miller *et al.* (1971) e posteriores estudos em medicina humana dentária, pode atingir uma distância até cerca de 2 m do ponto de origem (Augusto *et al.*, 1998; Chiramana *et al.*, 2013). O elevado raio de dispersão dos aerossóis e gotículas gera a contaminação do ambiente circundante. Num estudo realizado por Prospero, Savini e Anmino (2003) a nível da clínica dentária em medicina humana, verificou-se que quantitativamente o grau de contaminação bacteriana por microrganismos dispersos por aerossóis se relaciona indirectamente com a distância da cavidade oral do paciente. Deste modo, o operador é o mais afectado, seguido dos aparelhos e instrumentos de trabalho mais próximos e, por último, as superfícies auxiliares de trabalho, como armários e bancadas (Prospero *et al.*, 2003). Com foco apenas no operador, também em medicina humana, Nejatidanesh, Khosravi, Goroochi, Badrian e Savabi (2013) determinaram que as áreas de maior risco a nível da face são o canto interior dos olhos e o nariz.

Não existem referências bibliográficas em relação ao raio de dispersão de aerossóis e gotículas na realização de procedimentos dentários em medicina veterinária.

### **3.2 Microbiota oral no cão**

Na microbiota oral de canídeos foram identificados até hoje mais de 300 microrganismos (Elliott, Wilson, Buckley & Spratt, 2005). A maioria das espécies bacterianas presentes na cavidade oral saudável encontra-se igualmente presente em cães com doença periodontal. A alteração do ambiente periodontal, com a evolução da gravidade da doença periodontal, encontra-se relacionada com o aumento proporcional de determinadas espécies bacterianas. Verifica-se sobretudo um aumento da prevalência dos microrganismos anaeróbios, o que reforça a sua participação na etiologia da doença periodontal em cães (Afonso *et al.*, 2005a).

Os primeiros estudos da microbiota da placa dentária remontam aos anos 80 e foram realizados por Syed *et al.* (1980, 1981) em amostras de placa bacteriana supra e subgengivais de cães da raça Beagle com gengivite e periodontite. No total das amostras bacterianas verificou-se um predomínio das espécies anaeróbias Gram negativas. A nível

da placa supragengival em cães com gengivite os géneros bacterianos identificados mais prevalentes foram *Streptococcus* e *Actinomyces* nos cães com gengivite, e a espécie *Bacteroides assacharolyticus* nos cães com periodontite. Tanto nos canídeos com gengivite como nos animais com periodontite, *Fusobacterium nucleatum* revelou-se a espécie bacteriana mais prevalente nas amostras da placa subgengival (Syed *et al.*, 1980, 1981). Num estudo posterior de Svanberg, Syed e Scott (1982), no qual foi comparada a microbiota oral entre 10 cães da raça Beagle com gengivite e 10 cães da raça Beagle com periodontite, os resultados foram concordantes com os dos estudos de Syed *et al.* (1980, 1981) anteriormente referidos.

Sarkiala *et al.*, (1993) num estudo em que foi comparada a composição da microbiota oral de amostras colhidas a nível subgengival de dentes saudáveis e com periodontite em 16 cães de raça pequena, verificou igualmente uma predominância nas amostras colhidas de lesões periodontais de bacilos Gram negativos pigmentados, sobretudo *Porphyromonas* spp.. Na continuação de identificação de bactérias associadas a periodontite Renvert, Wikstrom, Muir e Claffey (1996) investigaram a presença selectiva de algumas bactérias em amostras de placa bacteriana supra e subgengival, quer de locais saudáveis, quer com periodontite, de 6 cães da raça Beagle. Estes autores confirmaram uma predominância das espécies *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* em lesões com periodontite induzida, comparativamente a locais gengivais saudáveis, sugerindo a importância destes microrganismos na etiologia da periodontite, à semelhança do observado na medicina humana.

Na continuação do estudo de Sarkiala *et al.* (1993) foi realizado um estudo por Forsblom, Love, Sarkiala-Kessel e Jousimies-Somer (1997) com o objectivo de caracterizar fenotípica e genotipicamente bacilos sacarolíticos Gram negativos anaeróbios e não pigmentados. As amostras foram colhidas de locais saudáveis e a nível subgengival em 16 canídeos domésticos com doença periodontal. Neste estudo foram identificadas no total 52 amostras bacterianas, tendo-se verificado a prevalência de 75% de *Bacteroides pyogenes* e *Bacteroides tectum*, e sua correlação positiva com lesões de periodontite.

No seguimento dos estudos anteriores, Domingues, Alessi, Schoken-Iturrinho e Dutra (1999) pesquisaram as bactérias anaeróbias predominantes a nível subgengival associadas à doença periodontal. As amostras foram colhidas de 22 cães de raça indeterminada com periodontite, e posteriormente identificadas pelo sistema API 20 A. Do total de 84 amostras obtidas foram identificadas bactérias pertencentes aos seguintes géneros: *Prevotella* spp. (45 amostras); *Bacteroides* spp. (21 amostras); *Propionibacterium* spp. (7 amostras); *Gemella* spp. (4 amostras); *Actinomyces* spp. (3 amostras); *Eubacterium* spp. (2 amostras) e *Porphyromonas* spp. (2 amostras).

Mais recentemente, num estudo realizado por Braga *et al.* (2005) com canídeos da raça Pastor Alemão, foi isolada e identificada para comparação a microbiota de 12 cães com periodonto saudável e 17 cães com doença periodontal. Foram isoladas 672 amostras microbianas, das quais 379 (56,40%) correspondiam a bactérias anaeróbias estritas, 236 (35,12%) a anaeróbias facultativas, 46 (6,84%) a aeróbias estritas ou microaerófilas e onze (1,64%) a leveduras. Os géneros bacterianos isolados e identificados com maior incidência nas amostras recolhidas de sítios que apresentavam sinais clínicos de doença periodontal foram *Porphyromonas* spp., *Fusobacterium* spp. *Bacteroides* spp., *Pasteurella multocida* e *Escherichia coli*. Com recurso à técnica de sequenciação do 16S rRNA. Elliott *et al.*, (2005) realizaram um estudo com um total de 339 isolados bacterianos, com origem na placa bacteriana de 9 canídeos e na saliva de outros 5 canídeos. Na placa bacteriana identificaram-se com maior prevalência, por sequenciação do 16S rRNA, os seguintes géneros bacterianos: *Porphyromonas* (20%), *Actinomyces* (12%) e *Neisseria* (10%).

Hardham, Dreier, Wong, Sfintescu e Evans (2005) realizaram um estudo que teve por objectivo identificar bactérias anaeróbias produtoras de colónias de pigmentação negra (*black pigmented anaerobic bacteria*, BPAB) e as suas frequências relativas nas bolsas periodontais de canídeos, uma vez que, à semelhança de medicina humana, são consideradas agentes etiológicos da doença periodontal. As bactérias anaeróbias isoladas de bolsas periodontais de cães foram: *Porphyromonas salivosa* (39%), *Porphyromonas denticanis* (36%), *Porphyromonas gulae* (33%) e *Porphyromonas canis* (21%).

Num estudo de Nishiyama, Senhorinho, Gioso e Avila-Campos (2007) foi pesquisada a presença por técnicas de *polymerase chain reaction* (PCR) de um conjunto de microrganismos cuja presença tem demonstrado correlação positiva com a destruição dos tecidos periodontais (*Phorphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Dialister pneumosintes*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* e *Treponema denticola*). Foram colhidas amostras de placa subgengival em 40 cães de diferentes raças, 25 com e 15 sem periodontite. Em cães com periodontite identificaram *P. gingivalis* (64%), *C. rectus* (36%), *A. actinomycetemcomitans* (24%), *P. intermedia* (20%), *T. forsythensis* (20%), *F. nucleatum* (16%) e *E. corrodens* (12%). À excepção de um caso de *P. gingivalis*, nenhum dos agentes patogénicos da doença periodontal estava presente nos cães saudáveis.

Num estudo de Bota, Muste, Beteg, Scurtu e Krupaci (2010), com 18 cães de diferentes raças, géneros e idades, foi colhida uma amostra da placa supragengival de cada paciente e identificou-se: *Staphylococcus* spp. (72,22%); *Streptococcus* spp. e *E. coli* (50%); *Neisseria* (55,55%); *Candida* spp., *Fusobacterium* e *Proteus* spp. (27,77%); *Corynebacterium* spp. (16,66%); e *Pseudomonas* (5,55%). Avaliou-se igualmente a distribuição das bactérias isoladas segundo o estadio de doença periodontal classificado segundo o *American*

Veterinary Dental College (AVDC). No estadio 1 identificaram *Streptococcus* (100%), *Staphylococcus* (50%), *Neisseria* (50%), *Proteus* (25%) e *E. coli* (25%). No estadio 2 identificaram-se *Streptococcus* (25%), *Staphylococcus* (100%), *Neisseria* (100%), *Proteus* (75%) e *E. coli* (75%). No estadio 3 identificaram-se *Streptococcus* (50%), *Staphylococcus* (50%), *Neisseria* (100%), *Proteus* (25%), *E. coli* (75%) e *Corynebacterium* (25%). No estadio 4 identificaram-se *Streptococcus* (33%), *Staphylococcus* (83%), *E. coli* (33%), *Corynebacterium* (33%), *Fusobacterium* (83%) e *Pseudomonas* (16%).

Riggio, Lennon, Taylor e Bennett (2011), com recurso a métodos de cultura e identificação molecular isolaram e identificaram as bactérias em 3 cães com gengivite e 3 cães com periodontite, para comparação com 3 cães de controlo saudáveis. Com recurso a testes de identificação bioquímica, obtiveram 32 isolados bacterianos com prevalência de *Neisseria weaveri*. Nos isolados de cães com gengivite predominaram as espécies bacterianas *Bacteroides heparinolyticus* e *Pasteurella dogmatis* e nos cães com periodontite a espécie predominante foi *Actinomyces canis*. Já com recurso à técnica de sequenciação do 16S rRNA, a espécie bacteriana mais prevalente em cães com gengivite foi *Porphyromonas caningivalis* (16,1%), seguida de *Porphyromonas canoris*, *Tanerella forsythensis* e *Capnocytophaga cynodegmi*. Nos cães com periodontite as espécies bacterianas identificadas com maior frequência foram *Desulfomicrobium orale* (12%), *Actinomyces* sp. e *Capnocytophaga cynodegmi*.

Relativamente às espécies bacterianas preponderantes a nível da placa subgengival, Dahlén, Charalampakis, Abrahamsson, Bengtsson e Falsen (2011) isolaram 21 espécies bacterianas diferentes de seis canídeos da raça Labrador, com recurso à técnica de hibridização DNA-DNA. O género predominante foi *Porphyromonas* (com a espécie bacteriana *Porphyromonas crevioricanis* mais prevalente), seguindo-se por ordem decrescente *Fusobacterium* (espécie bacteriana *Fusobacterium canifellum* mais prevalente), *Bacteroides*, *Campylobacter*, *Preptostreptococcus* e *Tanerella*.

Já García *et al.* (2012) na identificação das bactérias predominantes na placa supragengival através de métodos de cultura bacteriana, em 10 cães da raça Beagle com doença periodontal induzida cirurgicamente, concluíram que as espécies predominantes eram: *Neisseria* sp., *Streptococcus* sp., *Staphylococcus* sp. e *Corynebacterium* sp..

### **3.3 Riscos infecciosos associados a aerossóis da destartarização**

Na realização da destartarização dentária em canídeos a formação de aerossóis é um risco, uma vez que se podem transmitir agentes patogénicos entre pacientes, ou entre o paciente e o clínico veterinário (Trenter & Walmsley, 2003). Estes aerossóis são um meio de disseminação de microrganismos derivados da placa bacteriana, cálculo dentário,

saliva, sangue, secreções da naso-faringe, tecidos dentários e água do destartarizador (Szymańska & Sitkowska, 2013).

Em medicina humana estes mesmos microrganismos presentes nos aerossóis de destartarização dentária são considerados importantes na medida em que podem ser responsáveis pela transmissão de doenças infecciosas respiratórias, oculares e de pele, tuberculose, hepatite B e síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) (Grenier, 1995; Szyma & Sitkowska, 2012). Em medicina humana têm sido desenvolvidos vários estudos em termos de avaliação quantitativa da contaminação microbiana atmosférica, verificando-se um aumento dos valores aquando da realização da destartarização dentária (Grenier, 1995; Pasquarella, Pitzurra, & Savino, 2000; Rautemaa *et al.*, 2006; Timmerman, Menso, Steinfort, van Winkelhoff & van der Weijden, 2004). Relativamente à avaliação da contaminação bacteriana por aerossóis resultantes da destartarização dentária em termos quantitativos, encontra-se pouca informação disponível. Um estudo em medicina dentária humana realizou uma análise quantitativa dos aerossóis libertados em procedimentos dentários, nos quais foi frequente o uso de destartarizadores ultra-sónicos. As placas com meios de cultura para colheita das amostras foram colocadas a uma distância de 60-90 cm. Neste estudo isolou-se e identificou-se, por ordem decrescente de frequência: *Staphylococcus epidermis*, *Diphtheroides* e *Micrococcus*; microrganismos comensais da pele, conjuntiva e cavidade oral humana (Maghlouth, Yousef & Bagieh, 2004). Em medicina veterinária não se encontrou na bibliografia nenhum estudo, quer de avaliação bacteriana qualitativa, quer quantitativa dos aerossóis de destartarização dentária.

Segundo um inquérito efectuado nas clínicas dentárias de medicina humana aos profissionais que trabalham com destartarizadores ultra-sónicos, os sinais clínicos mais frequentes relacionados com a exposição aos aerossóis dentários são corrimento nasal e ocular, fraqueza e dores musculares, cefaleia, pele seca ou prurido cutâneo (Basu, Browne, Potts, & Harrington, 1988).

A saúde oral relaciona-se com o risco de desenvolvimento de infecções do aparelho respiratório, existindo uma relação directa entre os níveis de placa bacteriana e a emergência destes problemas respiratórios (Mojon, Budtz-Jørgensen, Michel & Limeback, 1997). Uma das vias de contaminação é a inalação destes microrganismos, pois os aerossóis com dimensões de 5 µm têm a capacidade de penetrar no aparelho respiratório inferior atingindo os alvéolos pulmonares. Estes aerossóis podem originar infecções respiratórias de acordo com a patogenicidade dos microrganismos presentes e a imunidade do hospedeiro (Grenier, 1995). Num estudo de Bennett *et al.* (2000) em que foi avaliado o risco de exposição dos operadores e assistentes clínicos às bactérias presentes nos aerossóis dentários, concluiu-se que há uma exposição a picos de

concentração de aerossóis bacterianos durante 15 minutos, considerando uma taxa de respiração de 1m<sup>3</sup>/h. A placa dentária também pode funcionar como reservatório de agentes patogénicos respiratórios, ao ser colonizada por estes. Os principais agentes infecciosos respiratórios identificados na placa bacteriana de humanos são *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Haemophilus parainfluenzae* e *Pseudomonas aeruginosa*, agentes etiológicos de faringite e pneumonia (El-solh, Pietrantonio & Bhat, 2013; Russell, Boylan, Kaslick, Scannapieco & Katz, 1999; Sumi, Miura, Sunakawa, Michiwaki & Sakagami, 2002; Szyma & Sitkowska, 2012). Todavia, as infeções pulmonares com origem nas bactérias orais resultam sobretudo da aspiração destes microrganismos patogénicos para os pulmões (Terpenning & Taylor, 2001). Em medicina humana, entre os exemplos de microrganismos característicos da doença periodontal que foram identificados na origem de infeções respiratórias encontram-se *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum* (Bartlett, 1993; Morris & Sewell, 1994).

Os aerossóis com um diâmetro superior a 100 µm não penetram nas vias respiratórias, mas entram em contacto com a pele, olhos e mucosas (Szyma & Sitkowska, 2012). A nível ocular, tanto o paciente como o médico veterinário podem sofrer lesões traumáticas e infeções originadas pelos aerossóis e detritos de cálculo gerados durante a destartarização dentária (Leggat, Kedjarune & Smith, 2007). Num questionário realizado a nível de clínicas dentárias humanas no Reino Unido verificou-se que 48% dos clínicos de medicina dentária já tinha sofrido trauma ou infeção ocular em consequência da realização de procedimentos dentários (Farrier, Farrier & Gilmour, 2006). Ainda em medicina humana, um estudo sobre a prevalência de afecções oculares em medicina dentária revelou que são mais frequentes no sexo masculino em que 71,4% teve conjuntivites contra 28,5% no sexo feminino. Também existem diferenças entre sexos quanto à presença de corpos estranhos a nível ocular: nos homens a prevalência foi de 73% enquanto nas mulheres foi de 27% (Al Wazzan, Almas, Al Qahtani, Al Shethri & Khan, 2001).

Embora não existam descritos na literatura casos clínicos de infeções oculares secundários ao procedimento de destartarização, casos de infeção ocular com presença de bactérias que compõem a microbiota oral foram descritos tanto em medicina humana como em medicina veterinária. Em medicina humana foi comunicado um caso de conjuntivite unilateral refractária num paciente com doença periodontal grave. A nível ocular isolaram-se *Prevotella intermedia* e *Peptostreptococcus micros*, bactérias anaeróbias com origem da cavidade oral, que foi comprovada com recurso à técnica de identificação de DNA genómico através de endonucleases de restrição (Winkelhoff, Abbas, Pavicic & Graaff, 1991). No estudo de Ledbetter e Scarlett (2008) em que foi



realizado o isolamento de bactérias anaeróbias ao nível da córnea, em animais domésticos com queratite ulcerativa, em 2 canídeos isolou-se *Capnocytophaga spp.*, uma bactéria que faz parte da microbiota oral canina.

A presença de lesões na pele é uma possível porta de entrada para agentes patogénicos, estando os microrganismos da cavidade oral implicados em infecções cutâneas. O exemplo mais comum desta ocorrência são as feridas por mordedura de cães onde predominam as bactérias orais como: *Staphylococcus sp.*, *Pasteurella multocida*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga canimorsus*, *Actinomyces sp.*, *Fusobacterium sp.*, *Porphyromonas sp.* e *Prevotella sp.* (Abrahamian & Goldstein, 2011; Mouro, Vilela & Niza, 2010; Samaranayake, 2005; Zambori, Cumpanasoiu, Bianca & Tirziu, 2013).

Existe igualmente a possibilidade de transmissão de bactérias periodontopatogénicas. Num estudo de Yamasaki *et al.* (2013) foi pesquisada por técnica de PCR a presença de bactérias responsáveis pela doença periodontal comuns a cães e seus proprietários, concluindo-se que espécies bacterianas como *Porphyromonas gulae*, *Eikenella corrodens* e *Treponema denticola* podem ser transmitidas pelo contacto diário próximo. Encontram-se descritos outros casos de transmissão de bactérias presentes na doença periodontal entre os proprietários e os seus canídeos por contacto próximo (Preus & Olsen, 1988).

### **3.4 Medidas de protecção**

Na prática da clínica dentária veterinária devem ser tomadas medidas de prevenção e protecção, para controlo e prevenção das infecções transmitidas através dos aerossóis de destartarização dentária em canídeos.

Os procedimentos dentários não estéreis, como a destartarização dentária, devem ser realizados num espaço próprio e separado da área de cirurgia estéril, de modo a minimizar os riscos de contaminação bacteriana desta área (Gorrel & Nind, 2008; Holmstrom *et al.*, 2013).

Segundo Szymańska (2007), o uso de um sistema de ventilação com filtros reduz a contaminação bacteriana pelos aerossóis de destartarização e previne a sua disseminação. William, Pollok, Shay e Barr (1970) demonstraram a eficácia do uso de um sistema de fluxo laminar na redução significativa (99,67%) da disseminação de aerossóis da destartarização dentária com aparelhos ultra-sónicos.

Outro método aplicável é o recurso à radiação ultra-violeta (250-265nm), que tem propriedades fungicidas, viricidas e bactericidas (Szymańska, 2007).

À semelhança de medicina humana, as superfícies de contacto mais próximas da fonte de aerossóis e regularmente manuseadas, devem ser limpas e desinfectadas entre cada paciente, ou cobertas por protecções descartáveis. Recomenda-se igualmente a limpeza e desinfeção da restante área da sala de trabalho (ex: chão, paredes, bancadas de apoio) com detergentes e desinfectantes aprovados (Kohn *et al.*, 2004; Samaranayake, 2005).

A mesa de trabalho deve ser feita de materiais impermeáveis e de fácil limpeza e desinfeção, e possuir um sistema de drenagem de líquidos (Holmstrom *et al.*, 2013). Na aquisição de uma unidade de destartarização dentária é importante informar-se sobre a sua manutenção e cuidados necessários, quer através dos manuais de utilizador, quer pelo contacto com a empresa fornecedora (Kesel, 2000).

À semelhança de medicina humana, os instrumentos dentários devem ser esterilizados antes de cada utilização. No caso dos instrumentos em que a sua durabilidade seja comprometida pelo processo de esterilização, aceita-se a desinfeção dos mesmos. Deverão ser seguidas as recomendações do fabricante no que diz respeito à limpeza, esterilização e lubrificação dos instrumentos (Holmstrom *et al.*, 2013; Kohn *et al.*, 2004).

A água de irrigação e arrefecimento dos destartarizadores constitui igualmente um risco microbiológico pelos microrganismos presentes na água da rede pública ou do reservatório da unidade dentária e pela formação de biofilmes nas tubagens onde a água circula (Szymańska, 2005). Recentemente Szymańska e Sitkowska (2013) observaram a contaminação das unidades de destartarização a nível dos reservatórios de água por bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. A unidade de destartarização deve ser passada com água, para remoção mecânica da micromicrobiota que se formou por estagnação no período em que não foi utilizada. Entre cada paciente deve ser feita uma descarga de 20 a 30 segundos de água, com vista a diminuir o risco de infecções cruzadas entre pacientes (Szymańska, 2007). No fim de um dia de trabalho, ou quando a unidade de destartarização dentária não está a ser utilizada, as tubagens devem ser deixadas a secar (Kesel, 2000). No caso de se recorrer à água dos serviços municipais, deve certificar-se que esta preenche os requisitos de água potável. Em sistemas de água fechados com reservatórios de água independentes, deve-se ter o cuidado adicional de limpar e desinfectar o reservatório com alguma regularidade e fazer a aplicação de tratamentos químicos (ex: peróxido de hidrogénio a 6%) com vista ao controlo microbiológico (Kohn, 2003; Szymańska, 2007). Hoje em dia, a maioria dos destartarizadores já possui válvulas que impedem o refluxo de fluidos orais para as tubagens, que devem ser renovadas periodicamente (Berlutti, Testarelli, Vaia, Luca & Dolci, 2003; Kesel, 2000; Kohn, 2003).

Antes de qualquer procedimento oral deve existir um conhecimento da história clínica do canídeo, que é possibilitado pelo registo e acesso à respectiva ficha clínica (Samaranayake, 2005). Em medicina veterinária, para a realização da destartarização dentária é essencial a anestesia geral com intubação endotraqueal que, além impedir a aspiração da água de irrigação e arrefecimento do destartarizador, evita a inalação de aerossóis bacterianos e detritos. Adicionalmente, deve ser colocada uma compressa no pós-boca, que é retirada imediatamente antes da extubação (Gorrel, 2013; Kesel, 2000). A fim de reduzir a carga microbiana dos aerossóis, antes dos procedimentos orais recomenda-se a lavagem da cavidade oral com uma solução de clorexidina a 0,12% antes dos procedimentos orais (Niemic, 2008b). A eficácia da clorexidina na diminuição das bactérias viáveis presentes nos aerossóis foi constatada em vários estudos, estando associada a uma contagem de unidades formadoras de colónias (UFC) menor comparativamente ao grupo testemunha (Devker *et al.*, 2012; Purohit, Priya, Acharya, Bhat & Ballal, 2009; Suresh, Manimegalai, Sudhakar & Sophia, 2011).

No que diz respeito à protecção ocular, aconselha-se a aplicação de uma pomada de lágrima artificial, que prevenirá não só a infecção pelas bactérias presentes nos aerossóis, mas também protegerá a córnea. Outra opção será colocar um pano para prevenir a exposição dos olhos aos aerossóis (Gorrel, 2013; Kesel, 2000).

Deve ser utilizado um aparelho de sucção, visto que é um meio eficaz na redução dos aerossóis libertados e protege as vias respiratórias contra a saliva, água de irrigação e detritos gerados. Tal como em medicina humana, a ponta do aparelho de sucção deve ser trocada entre cada paciente (Gorrel, 2013; Szymańska, 2007).

Tanto o veterinário como os assistentes devem usar os equipamentos de protecção individual para sua segurança contra o risco que estes aerossóis constituem (Kesel, 2000). Para prevenir a contaminação do vestuário pessoal e protecção da pele, o clínico veterinário e assistentes devem utilizar um uniforme de trabalho ou bata reutilizável (Figura 11). As mangas deverão ser preferencialmente compridas, para cobrir uma das zonas mais afectadas pelos aerossóis (Augusto *et al.*, 1998). Todas as peças de vestuário de protecção pessoal devem ser trocadas diariamente, ou logo após a sua utilização no caso de ficarem visivelmente contaminadas (Kesel, 2000; Kohn *et al.*, 2004; Samaranayake, 2005).

Para protecção das vias respiratórias, é crucial o uso de máscaras cirúrgicas (Figura 11). Existem vários modelos disponíveis, com a capacidade de serem ajustáveis a cada utilizador e serem eficientes na sua capacidade de filtração de partículas de dimensão correspondente. Os filtros presentes nas máscaras cirúrgicas divergem, mas a maioria

tem uma eficiência de filtração de cerca de 95%. Aerossóis com concentração e dimensão igual ou inferior a 5 µm conseguem penetrar os filtros das máscaras cirúrgicas. A máscara cirúrgica deve ser mudada entre pacientes, ou no mesmo procedimento caso fique molhada, pois a sua eficácia fica reduzida (Micik, Miller & Leong, 1971; Oberg & Brosseau, 2008).

As mãos são um dos mais importantes veículos na transmissão de infecções, sendo essencial uma boa higiene e desinfecção das mesmas com um agente antimicrobiano, antes e depois de cada procedimento dentário. Todas as lesões e cortes a nível cutâneo devem ser protegidos, pois constituem uma porta de entrada para microrganismos. Devem também usar-se luvas cirúrgicas descartáveis para prevenir a contaminação das mãos, diminuir o risco de infecção de feridas e impedir que sejam um meio de propagação de microrganismos da cavidade oral (Figura 11). As luvas devem ser usadas apenas uma vez, sendo trocadas entre cada paciente ou no trabalho com o mesmo paciente no caso de a sua integridade estar comprometida (Kohn *et al.*, 2004; Samaranayka, 2005).

Para protecção dos olhos de aerossóis, gotículas e detritos, encontram-se disponíveis óculos ou viseiras de protecção ocular (Figura 11). Estes devem conferir eficiente protecção, não só frontal, mas também lateral. Estes equipamentos de protecção ocular devem ser limpos com regularidade ou quando visivelmente contaminados (Samaranayake, 2005).

Figura 11 – Uso de equipamentos de protecção pessoal por aluna veterinária na realização de uma destartarização dentária na sala de preparação cirúrgica do Hospital da FMV. (Original).



### **III- ESTUDO DE PESQUISA DE MICRORGANISMOS NOS AEROSSÓIS LIBERTADOS DURANTE O PROCEDIMENTO DE DESTARTARIZAÇÃO DENTÁRIA EM CANÍDEOS**

#### **1. Objectivos**

Os objectivos deste trabalho experimental consistiram na identificação dos microrganismos presentes em amostras de aerossóis libertados durante a realização da destartarização dentária de canídeos, para avaliar o potencial risco de contaminação com agentes patogénicos do paciente, da sala de cirurgia, dos instrumentos utilizados e do médico veterinário.

#### **2. Materiais e métodos**

##### **2.1 Amostra**

O estudo foi realizado a partir de um conjunto de amostras provenientes de 15 canídeos com doença periodontal que foram submetidos a uma destartarização dentária no Hospital Veterinário da FMV, no período compreendido entre 1 de Setembro de 2012 e 30 de Julho de 2013.

As amostras foram colhidas da cavidade oral e de aerossóis libertados durante a destartarização dentária.

##### **2.2 População em estudo**

Para este estudo foram considerados 15 cães, 6 machos e 9 fêmeas, com idades compreendidas entre os 2 e 15 anos, e pesos vivos entre os 2,3 kg e 16,6 kg. No total dos 15 cães encontraram-se representadas várias raças: Cocker Spaniel, Caniche, Spitz Anão e Yorkshire Terrier, bem como cães de raça indeterminada. Alguns animais além da doença periodontal apresentavam outras doenças concomitantes, como hérnia perineal, insuficiência pancreática exócrina, diabetes mellitus, hiperadrenocorticism, insuficiência cardíaca, cataratas, neoplasia mamária, leishmaniose, hipotiroidismo, abscesso dentário, fístula oronasal e neoplasia oral (Tabela 3).

##### **2.3 Dados recolhidos**

Para cada paciente foi preenchida uma ficha com um breve questionário com o seu nome, sexo, idade, raça, peso, historial clínico e tratamentos antimicrobianos realizados nas duas semanas anteriores. Registaram-se igualmente todos os dados no exame oral e os procedimentos realizados (Anexo 1).

## **2.4 Classificação da gravidade da doença periodontal**

A classificação da doença periodontal foi estabelecida com a recolha de dados obtidos na consulta da ficha clínica e através do exame clínico da cavidade oral. O estadiamento da doença periodontal foi realizado com base na classificação apresentada na Tabela 1: gengivite (1), periodontite ligeira (2), periodontite moderada (3), periodontite grave (4).

## **2.5 Grupos em estudo**

A amostra de cães foi dividida em dois grupos: o grupo 1 (G1) que incluiu 4 animais (nº de caso 1 a 4), nos quais não foi instituído nenhum tratamento antimicrobiano no período de duas semanas antes da realização da destartarização dentária; e o grupo 2 (G2), que incluiu os restantes 11 cães (nº de caso 5 a 15), que se encontravam a realizar um tratamento antimicrobiano direccionado para a doença periodontal nas duas semanas anteriores à destartarização dentária (Tabela 4).

O grupo 2 foi ainda subdividido em dois grupos: grupo AMC (casos 5 a 7 do G2) nos quais o tratamento utilizado foi a associação de amoxicilina com ácido clavulânico; e grupo ESP+MTZ (casos 8 a 15 do G2) nos quais se prescreveu a associação de metronidazol com espiramicina (Tabela 4).

Tabela 3 – Caracterização dos cães utilizados, classificação do estadio de doença periodontal e tratamentos antimicrobianos utilizados no período de duas semanas antes da destartarização dentária.

Nº de caso	Nome	Sexo <sup>1</sup>	Idade (anos)	Raça	Peso (kg)	Doenças concomitantes	Estadio da doença periodontal <sup>2</sup>	Tratamento antimicrobiano
<b>Grupo 1</b>								
1	Bichon	M	9	Indeterminada	5,8	Hérnia perineal bilateral, nódulo glândulas hepatóides, insuficiência pancreática exócrina	3	-
2	Maria	F	11	Indeterminada	13,2	Diabetes mellitus, hiperadrenocorticism, insuficiência cardíaca, cataratas bilaterais	4	-
3	Minie	F	10	Cocker Spaniel	11,7	Neoplasia mamária	4	-
4	Ollie	M	11	Indeterminada	7,5	Leishmaniose	3	-
<b>Grupo 2</b>								
5	Baby	F	15	Indeterminada	4,3	Abcesso dentário	3	Amoxicilina com ácido clavulânico
6	Jolly	M	13	Caniche	6,5	Neoplasia oral, insuficiência da válvula mitral	3	Amoxicilina com ácido clavulânico

<sup>1</sup>M= macho; F= fêmea. <sup>2</sup> Classificação de acordo com o apresentado na Tabela 1

Tabela 3 (cont.) - Caracterização dos cães utilizados, classificação do estadio de doença periodontal e tratamentos antimicrobianos utilizados no período de duas semanas antes da destartarização dentária.

Nº de caso	Nome	Sexo <sup>1</sup>	Idade (anos)	Raça	Peso (kg)	Doenças concomitantes	Estadio da doença periodontal <sup>2</sup>	Tratamento antimicrobiano
<b>Grupo 2</b>								
7	Nina	F	13	Caniche	6,8	Abcesso dentário, neoplasia mamária	4	Amoxicilina com ácido clavulânico
8	Urca	F	5	Spitz Anão	2,8	Abcesso dentário e fístula infra-orbitária	2	Metronidazol com espiramicina
9	Dance	F	2	Yorkshire Terrier	2,3		3	Metronidazol com espiramicina
10	Dolly	F	2	Indeterminada	9,5	Abcesso dentário e fístula infraorbitária	3	Metronidazol com espiramicina
11	Lua	F	13	Indeterminada	13,5	Abcesso dentário e fístula infra-orbitária, neoplasia mamária	2	Metronidazol com espiramicina
12	Maggie	F	10	Caniche	3,3	Atrofia progressiva da retina	4	Metronidazol com espiramicina
13	Picolino	M	10	Indeterminada	6,2	Insuficiência cardíaca	3	Metronidazol com espiramicina
14	Rocky	M	11	Cocker Spaniel	16,6	Cataratas bilaterais	4	Metronidazol com espiramicina
15	Snoopy	M	13	Caniche	9,2	Estomatite crônica hiperplásica, hipotireoidismo	4	Metronidazol com espiramicina

<sup>1</sup>M= macho; F= fêmea. <sup>2</sup> Classificação de acordo com o apresentado na Tabela 1



## 2.6 Origem dos isolados e colheita das amostras

As colheitas de amostras de aerossóis libertados durante a realização da destartarização dentária foram realizadas nos dois grupos de canídeos (G1 e G2) em dois posicionamentos e tempos distintos da destartarização dentária. Assegurou-se que em nenhuma das destartarizações dentárias se realizou uma pré-lavagem da cavidade bucal dos cães com solução de clorexidina.

Na primeira colheita de amostras dos aerossóis foram utilizadas duas placas com meios de cultura, posicionadas a uma distância de aproximadamente de 10 cm da ponta do aparelho de destartarização, durante aproximadamente dois minutos (Figura 12). O aparelho de destartarização utilizado foi um modelo mecânico ultrassónico piezoeléctrico (Modelo: KRUUSE-SP2, Jorgen Kruuse®, Langeskov, Dinamarca).

Com vista à pesquisa de microrganismos presentes nos aerossóis foram utilizados dois tipos de placas de Petri de 90 mm com os seguintes meios de cultura i) Agar-sangue Columbia com 5% de sangue de carneiro (COS) (bioMérieux®, Marcy l'Étoile, França) para os microrganismos aeróbios; e ii) Agar-sangue Schaedler com 5% de sangue de carneiro (SCS) (bioMérieux®, Marcy l'Étoile, França), para os microrganismos anaeróbios estritos.

A segunda colheita de amostras foi realizada a nível subgengival com o auxílio de uma zaragatoa estéril descartável (Normax, refª 6091501), acondicionada em meio de transporte com carvão activado, no final da destartarização e imediatamente antes do polimento dentário com flúor. A colheita desta última amostra teve como objectivo a obtenção de uma amostra ao nível das bolsas periodontais, local onde estão presentes microrganismos anaeróbios.

Figura 12- Colheita de amostras com placa com meio de cultura a 10 cm da ponta do aparelho de destartarização dentária. (Original).

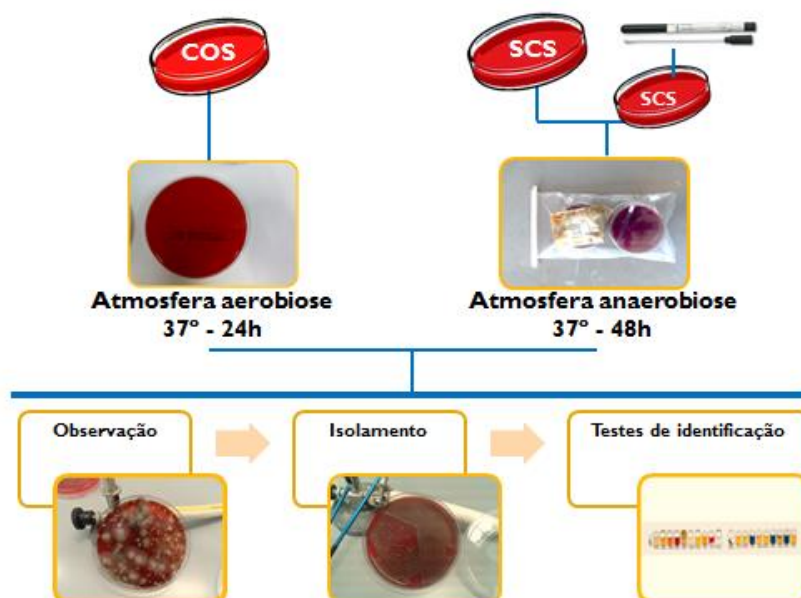


Terminada a destartarização dentária foram posteriormente enviadas para o Laboratório de Bacteriologia da FMV, tendo sido a Dra. Carla Carneiro a responsável pelo procedimento de isolamento e identificação dos microrganismos.

## 2.7 Processamento das amostras

No Laboratório de Bacteriologia da FMV o processamento das amostras seguiu-se como demonstrado na Figura 13

Figura 13 – Processamento das amostras de aerossóis da destartarização dentária dos canídeos.

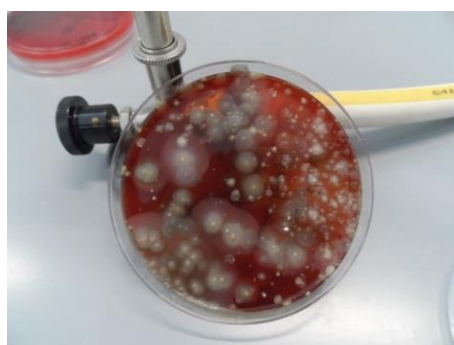


### 2.7.1 Isolamento bacteriano

Relativamente às amostras de aerossóis recolhidas com o auxílio das placas de cultura, procedeu-se à incubação das placas de COS a 37°C durante 24 h em atmosfera de aerobiose, e de SCS a 37°C durante 48 h em atmosfera de anaerobiose.

A amostra de aerossóis colhida a nível subgengival foi inoculada em meio de SCS e incubada por um período de tempo de 48 h a 37°C, em atmosfera de anaerobiose (Figura 14).

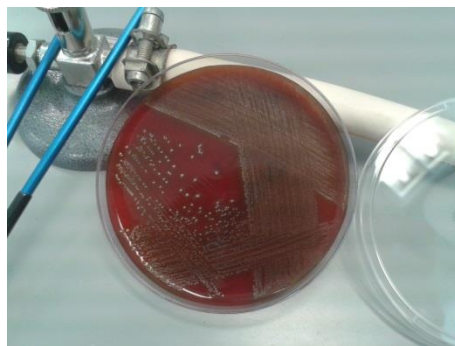
Figura 14 – Aspecto de placa de isolamento de microrganismos aeróbios e meio de cultura de COS após incubação a 37°C durante 24 h. (Original).



### 2.7.2 Pesquisa de microrganismos aeróbios

Para a pesquisa de microrganismos aeróbios procedeu-se à observação e isolamento, para cada placa de COS, de todas as colónias com morfologia macroscopicamente semelhante e em número superior a 5 UFC. Estas depois de isoladas foram incubadas a 37°C durante 24 h (Figura 15).

Figura 15 – Aspecto de placa de isolamento de microrganismos aeróbios e meio de cultura de COS após isolamento e incubação a 37°C durante 24 h. (Original).



Após novo período de incubação, confirmou-se a pureza das culturas através da realização da coloração diferencial de Gram. Finalizado este procedimento, realizaram-se os testes diferenciais da catalase e da oxidase, e fez-se a respectiva identificação dos microrganismos através dos testes bioquímicos comerciais API® (Analytical Profile Index) e BBL®, comercializados respectivamente pelas bioMérieux® (Marcy l'Étoile, França) e BD™ (Becton, Dickinson and Company, Estados Unidos da América).

O teste da catalase foi usado para a diferenciação dos cocos Gram positivos, sendo os catalase positivos pertencentes aos géneros *Staphylococcus* sp. ou *Micrococcus* sp., e os catalase negativos *Streptococcus* sp. ou *Enterococcus* sp..

Em relação aos bacilos Gram positivos, o teste da catalase foi utilizado para discriminar o género *Arcanobacterium* sp. negativo ao teste, do género *Corinebacterium* sp. que é positivo.

O teste da oxidase foi utilizado nos bacilos Gram negativos para distinção de duas famílias, as Enterobacteriaceas, que são oxidase negativas, das não Enterobacteriaceas, oxidase positivas.

Com vista à identificação da espécie bacteriana recorreu-se aos testes bioquímicos comerciais API ® (Staph, 20 Strep, 20E, 20NE, Coryne) e BBL®(GP, E/NF), como indicado na Tabela 4.

Tabela 4 – Testes bioquímicos comerciais utilizados para identificação dos diferentes microrganismos.

<b>Identificação bioquímica</b>	<b>Microrganismos identificados</b>
<b>API Staph®</b>	Cocos Gram positivos / Catalase positivos
<b>API 20 Strep®</b>	Cocos Gram positivos /Catalase negativos
<b>API 20 E®</b>	Bacilos Gram negativos / Oxidase negativos
<b>API 20 NE®</b>	Bacilos Gram negativos / Oxidase positivos
<b>API Coryne®</b>	Bacilos Gram positivos
<b>BBL GP®</b>	Cocos Gram positivos / Bacilos Gram positivos
<b>BBL E/NF®</b>	Bacilos Gram negativos

Para os cocos Gram positivos e catalase positivos foi usado o teste bioquímico em galeria API Staph® e para os catalase negativos o API 20 Strep®.

No caso dos bacilos Gram negativos e oxidase negativos usou-se o API 20 E®, enquanto para os oxidase positivos usou-se o API 20 NE®. Para os bacilos Gram positivos recorreu-se ao API Coryne®.

Os painéis bioquímicos comerciais API® acima referidos foram incubados a 37°C durante 24h.

Foram seguidos os protocolos disponibilizados pela bioMérieux e a leitura e interpretação dos resultados obtidos foram feitas na plataforma informática APIweb® disponibilizada também por esta empresa.

Para este estudo foi considerada válida uma identificação da espécie bacteriana quando houve uma correspondência de 75% no painel bioquímico realizado. Nas situações em que se verificou uma percentagem de correspondência inferior foi realizado o teste bioquímico BBL® [Crystal Gram Positive (GP) e Crystal Enteric/Non-fermenter (E/NF)].

### **2.7.3 Pesquisa de microrganismos anaeróbios**

Após recolha e incubação das placas de colheita, procedeu-se à observação e isolamento, para nova placa de SCS, de todas as colónias macroscopicamente distintas, que depois de isoladas foram posteriormente incubadas a 37°C durante 48 h (Figura 16).

Figura 16– Aspecto de placas de isolamento de microrganismos anaeróbios estritos de cultura SCS e saco de anaerobiose após isolamento e incubação a 37°C durante 48 h. (Original).



Após novo período de incubação, confirmou-se a pureza das culturas através da realização da coloração diferencial Gram e procedeu-se à realização da identificação bioquímica através do teste bioquímico comercial API 20 A® (bioMérieux), com incubação a 37°C durante 48 h. Na execução do teste bioquímico comercial API 20 A® (bioMérieux) seguiu-se o protocolo fornecido pela bioMérieux e recorreu-se à plataforma informática APIweb® para leitura e interpretação dos resultados obtidos.

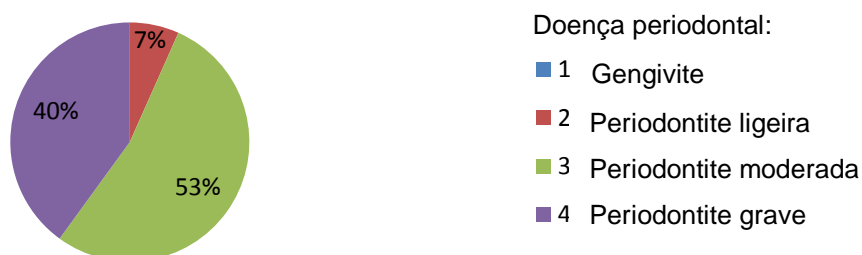
### 3. Resultados

#### 3.1 Caracterização da amostra

##### 3.1.1 Estadio da doença periodontal

O presente estudo incluiu uma amostra de 15 canídeos com doença periodontal. No Gráfico 4 apresentam-se as percentagens dos estadios de doença periodontal na amostra dos 15 canídeos estudados. Verificou-se que nenhum cão apresentava gengivite (classificação 1), 7% apresentava periodontite ligeira (classificação 2), 53% periodontite moderada (classificação 3) e 40% periodontite grave (classificação 4) (Gráfico 4).

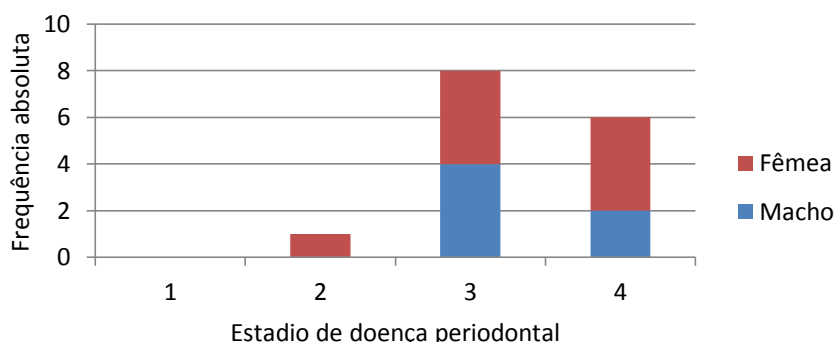
Gráfico 4- Percentagens dos estadios de doença periodontal na amostra de 15 canídeos.



##### 3.1.2 Caracterização da amostra quanto ao sexo vs. estadio da doença periodontal

No Gráfico 5 encontram-se as frequências absolutas da ocorrência de fêmeas e machos na amostra. Quanto ao sexo, verificou-se que no estadio de doença periodontal ligeira (2) houve uma fêmea. Relativamente ao estadio de doença periodontal moderada (3), encontraram-se 4 machos e 4 fêmeas. No estadio de doença periodontal grave (4) existiam 4 fêmeas e 2 machos na nossa amostra (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Frequências absolutas de fêmeas e machos na amostra de 15 canídeos.

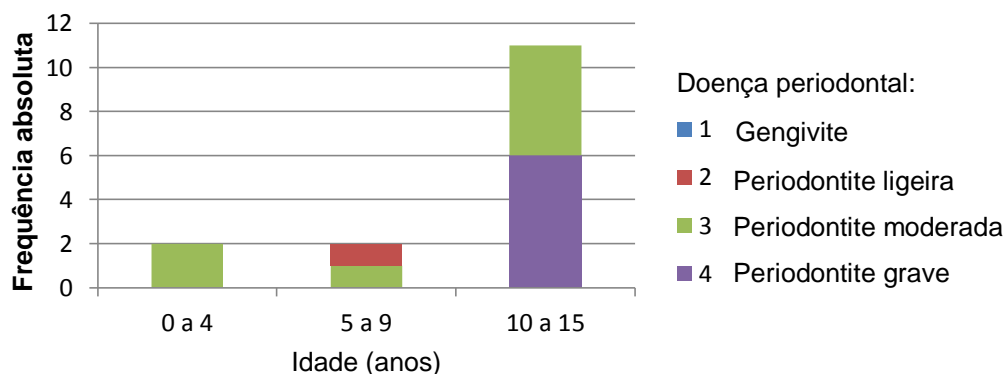


Relativamente à idade dos 15 cães da amostra estudada a média do total de idades foi 9,8 anos, com desvio padrão de 3,8. Com idades entre os 10 e os 15 anos identificaram-se 11 cães, entre os 5 e os 9 anos foram identificados 2 cães e entre os 2 e os 4 anos foram identificados também 2 cães.

### 3.1.3 Caracterização da amostra quanto à idade vs. estadio da doença periodontal

Destes canídeos com estadio de doença periodontal ligeira (2) o único cão tinha uma idade entre os 5 e os 9 anos. No estadio de doença periodontal moderada (3) encontraram-se 2 cães com idades entre os 0 e os 4 anos, 1 cão com idade entre os 5 e os 9 anos e 5 animais com entre os 10 e os 15 anos (62,5). Quanto ao estadio de doença periodontal grave (4) todos os 6 cães tinham idades compreendidas entre os 10 e os 15 anos (Gráfico 6).

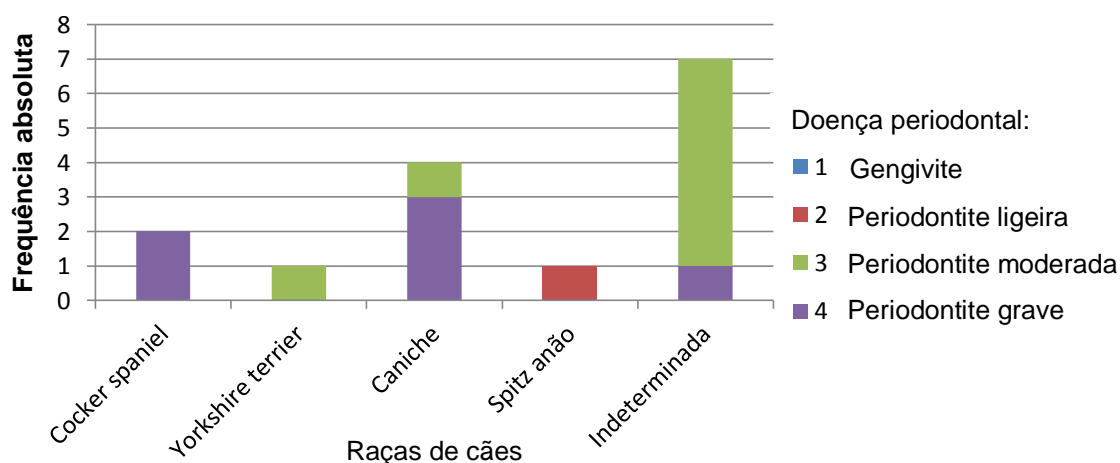
Gráfico 6- Relação entre a idade dos cães e o estadio de doença periodontal.



### 3.1.4 Caracterização da amostra quanto à raça vs. estadio doença periodontal

No que diz respeito às raças presentes nos 15 cães utilizados no estudo, encontraram-se: 7 cães de raça indeterminada, 4 cães da raça Caniche, 2 cães Cocker Spaniel, 1 cão Yorkshire Terrier e 1 cão Spitz Anão. Destes canídeos, dos 7 de raça indeterminada 6 apresentavam periodontite moderada (3) e 1 periodontite grave (4). Dos 4 Caniches, 3 apresentavam periodontite grave (4) e 1 apresentava periodontite moderada (3). Os 2 Cocker Spaniel apresentavam ambos periodontite grave (4). O Yorkshire Terrier apresentava periodontite moderada (3). Finalmente o Spitz Anão apresentava periodontite ligeira (2) (Gráfico 7).

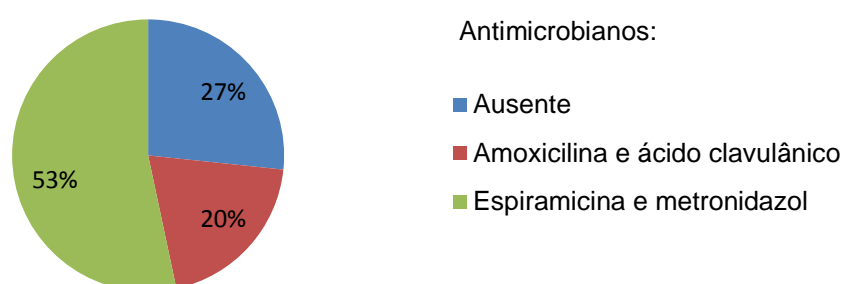
Gráfico 7- Relação entre raça de cães e o estadio de doença periodontal.



### 3.1.5 Caracterização da amostra quanto à terapêutica antimicrobiana em curso

Dos canídeos incluídos no estudo 4 cães (G1) não se encontravam a realizar nenhum tratamento antimicrobiano direccionado para a doença periodontal nas 2 semanas anteriores à destartarização dentária, representando 27% do total da amostra de cães. Onze dos cães (G2) encontravam-se a realizar um tratamento antimicrobiano nas duas semanas anteriores à destartarização dentária, sendo 73% do total da amostra de cães estudada. Os antimicrobianos prescritos para estes últimos cães foram as combinações de amoxicilina com ácido clavulânico (27%) e metronidazol com espiramicina (53%) (Gráfico 8).

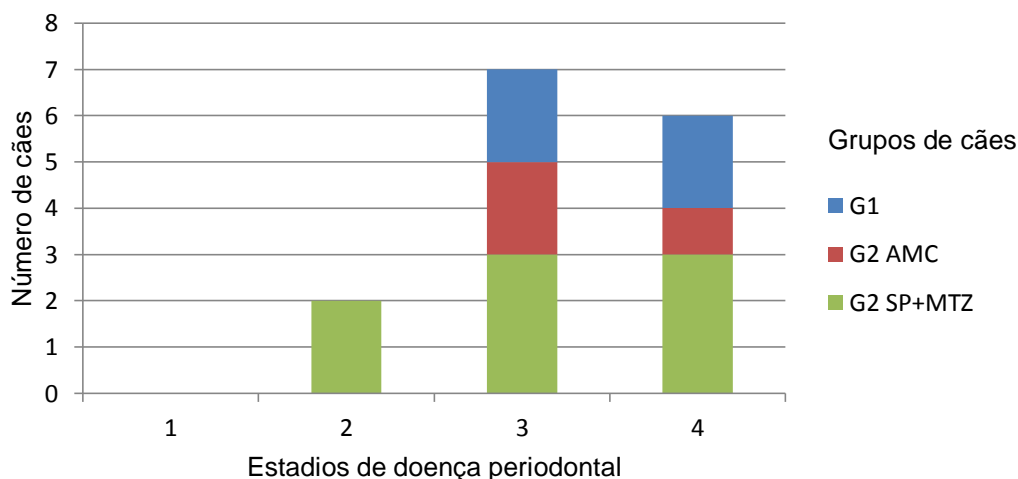
Gráfico 8- Antimicrobianos prescritos aos canídeos do estudo nas 2 semanas antes da destartarização dentária.



### 3.1.6 Caracterização da amostra quanto à terapêutica antimicrobiana em curso vs. estadio da doença periodontal

No Gráfico 9 apresenta-se a distribuição do número de cães, que se encontravam ou não a realizar terapêutica antimicrobiana, nos diferentes estadios de doença periodontal.

Gráfico 9- Distribuição dos 15 canídeos sujeitos ou não a terapêutica antimicrobiana nos diferentes estadios de doença periodontal.



No grupo G1 foram identificados 2 cães com doença periodontal moderada (3) e 2 cães com doença periodontal grave (4). Dentro do grupo G2 AMC, 2 canídeos apresentavam doença



periodontal moderada (3) e outros 2 doença periodontal grave (4). Enquanto no grupo G2 ESP+MTZ, 2 cães apresentavam periodontite ligeira (2), 3 apresentavam periodontite moderada (3) e 3 periodontite grave (4) (Gráfico 9).

### **3.2 Microrganismos isolados por paciente**

Na Tabela 5 apresentam-se os isolados bacterianos nos 15 cães estudados. Dos 15 cães pertencentes aos grupos G1 e G2 foram isolados e identificados 30 microrganismos pertencentes a 15 géneros bacterianos diferentes. Não se verificou crescimento bacteriano em duas amostras (caso 9 e 13 G2).

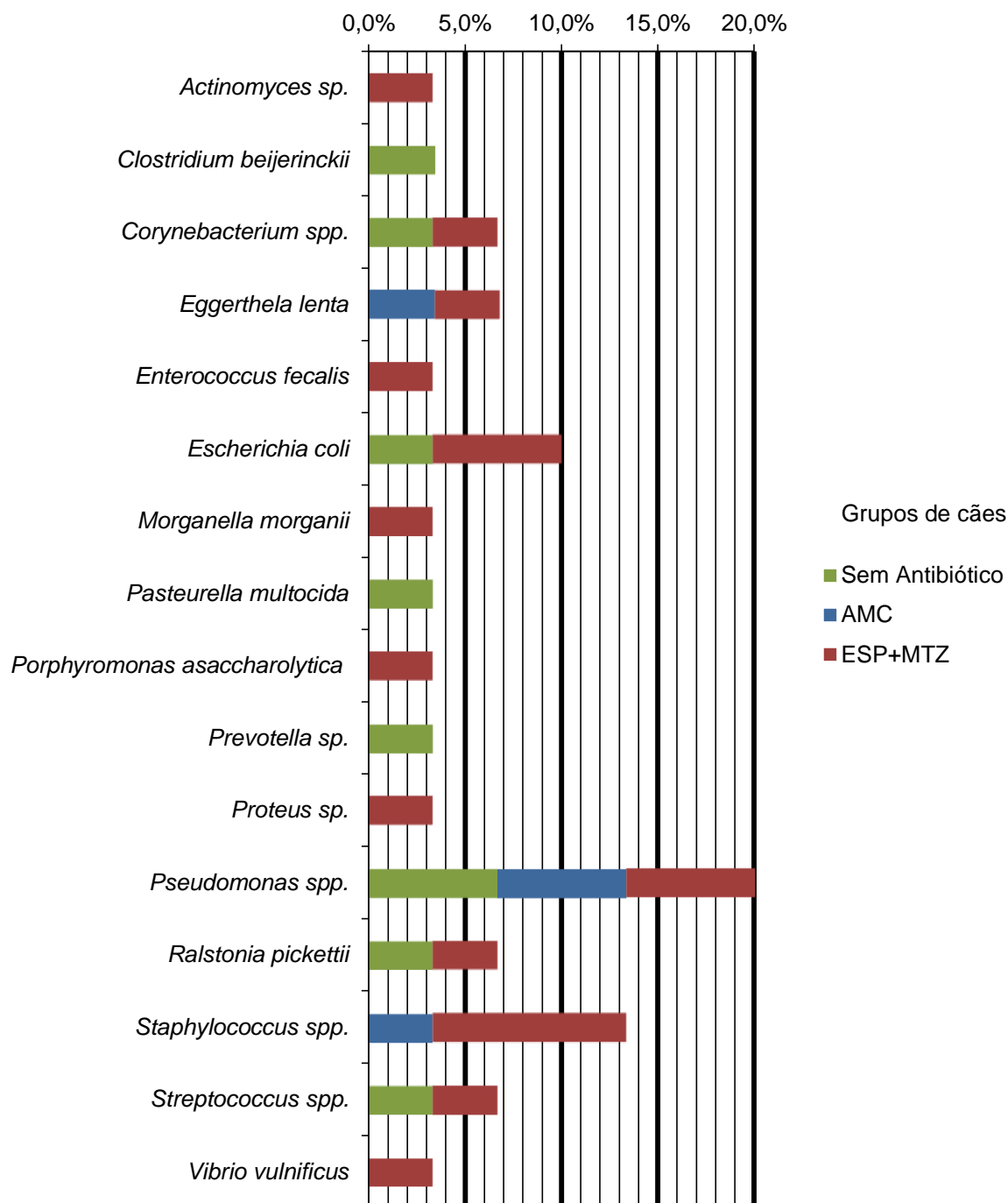
Tabela 5 – Isolados bacterianos nos 15 canídeos estudados, grupos G1 e G2 de cães.

Nº do caso	Isolado(s) bacteriano(s)
<b>Grupo 1</b>	
1	<i>Clostridium beijerinckii</i> <i>Pasteurella multocida</i> <i>Prevotella</i> sp. <i>Ralstonia pickettii</i>
2	<i>Corynebacterium glucoronolyticum</i> <i>Streptococcus constellatus</i>
3	<i>Escherichia coli</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
4	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Grupo 2</b>	
5	<i>Staphylococcus aureus</i>
6	<i>Eggerthella lenta</i>
7	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Pseudomonas</i> sp.
8	<i>Morganella morganii</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus chromogenes</i>
9	Sem crescimento
10	<i>Vibrio vulnificus</i> <i>Actinomyces</i> sp.
11	<i>Corynebacterium</i> sp. <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Escherichia coli</i>
12	<i>Escherichia coli</i> <i>Staphylococcus aureus</i>
13	Sem crescimento
14	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15	<i>Proteus</i> sp. <i>Streptococcus</i> sp. <i>Ralstonia pickettii</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Porphyromonas asaccharolytica</i> <i>Eggerthella lenta</i>

### 3.3 Microrganismos isolados – frequência relativa

As bactérias isoladas e identificadas com maior frequência foram por ordem decrescente: *Pseudomonas* spp. (20%); *Staphylococcus* spp. (13%); *Escherichia coli* (10%); *Corynebacterium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii* e *Streptococcus* spp. todos com uma percentagem de 7%; e *Actinomyces* sp., *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus fecalis*, *Morganella morganii*, *Pasteurella multocida*, *Porphyromonas asacharolytica*, *Prevotella* sp., *Proteus* sp. e *Vibrio vulnificus* todos com uma percentagem de 3% (Gráfico 10).

Gráfico 10- Isolados bacterianos na amostra de 15 canídeos com doença periodontal.



## **4. Discussão**

### **4.1 Amostra**

A amostra considerada neste estudo foi uma amostra heterogênea relativamente ao sexo, idade, peso e raças dos canídeos. No que diz respeito à idade, a idade mínima foi de 2 anos e a máxima de 15 anos, e a maioria dos cães apresentava uma idade avançada entre 10-15 anos (73%) (Gráfico 6). A amostra revelou-se formada sobretudo por fêmeas (60%), com 9 fêmeas e 6 machos (Gráfico 5). Relativamente às raças presentes no estudo, houve uma prevalência de raças de pequeno e médio porte (53%) (Gráfico 7). Quanto ao peso existiram variações entre os 2,3 kg e os 16,6 kg, que resultam da representação de diferentes raças. O estadio de doença periodontal mais prevalente na amostra foi periodontite moderada (53%) e grave (40%) (Gráfico 4). Na periodontite moderada (3) encontram-se representados igual número de machos e fêmeas, mas verificou-se uma predominância de animais com idades entre os 10 e os 15 anos (62,5%), de raça indeterminada (Gráficos 5, 6 e 7). Na periodontite grave (4) houve uma predominância de fêmeas, da raça Caniche, com idades compreendidas entre os 10 e os 15 anos (Gráficos, 5, 6 e 7). Os antimicrobianos utilizados foram associações de amoxicilina com ácido clavulânico, e de metronidazol com espiramicina, estando ambas indicadas para o tratamento da doença periodontal em canídeos. Os animais que não se encontravam a fazer terapêutica antimicrobiana (27% do total de cães) (Gráfico 8) apresentavam estadios de doença periodontal de periodontite moderada (3) e periodontite grave (4), existindo igual número de animais com estes estadios (Gráfico 9). Os cães aos quais foi prescrita a associação de amoxicilina com ácido clavulânico (20% do total de cães) (Gráfico 8), apresentavam maioritariamente estádios de periodontite moderada (3) (Gráfico 9). A associação de metronidazol e espiramicina foi a terapêutica realizada pela maior parte dos canídeos do estudo (53% do total de cães) (Gráfico 8), incluindo animais com periodontite ligeira (2), periodontite moderada (3) e periodontite grave (4) (Gráfico 9).

### **4.2 Métodos utilizados**

O método de colheita com placas de cultura foi utilizado em outros estudos quer de avaliação da composição bacteriana da microbiota oral canina saudável e de cães com periodontite, quer de avaliação qualitativa e quantitativa de aerossóis libertados nos procedimentos dentários em medicina humana (Manarte-Monteiro, Carvalho, Pina, Oliveira & Manso, 2013; Rautemaa *et al.*, 2006; Timmerman *et al.*, 2004).

Não se encontrou na bibliografia nenhum estudo sobre a avaliação qualitativa ou quantitativa de aerossóis libertados nos procedimentos dentários em medicina veterinária. Não se encontrou na bibliografia nenhum estudo sobre os eventuais riscos dos aerossóis libertados nos procedimentos dentários em medicina veterinária, sendo esse um dos principais objectivos do nosso trabalho.

Na identificação das espécies bacterianas presentes em cães com doença periodontal, vários estudos procederam à recolha de amostras e posterior cultura em placas com meio de cultura (Afonso *et al.*, 2005; Domingues *et al.*, 1999; Svanberg *et al.*, 1982; Syed *et al.*, 1980, 1981). Outros estudos de identificação da microbiota oral em cães com doença periodontal recorreram aos testes bioquímicos comerciais, o mesmo sucedeu com presente estudo (Afonso *et al.*, 2005; Domingues *et al.*, 1999).

Os estudos mais recentes recorrem ao uso de técnicas genéticas como a técnica de sequenciação do 16S rRNA pela sua especificidade (Elliot *et al.*, 2005; Nishiyama *et al.*, 2007).

Uma vez que os microrganismos anaeróbios são de mais difícil isolamento devido aos seus requisitos para o crescimento, recorreu-se a uma zaragatoa com carvão activado para a sua colheita. O mesmo método de colheita de amostras da placa bacteriana supragengival foi realizado noutros estudos de identificação de microrganismos que compõem a placa bacteriana dentária de canídeos (García *et al.*, 2012; Riggio *et al.*, 2011). As amostras dos aerossóis de destartarização dentária foram colhidas a uma distância de 10 cm da ponta do destartarizador, encontrando-se dentro do raio de dispersão de aerossóis e gotículas estabelecido em estudos anteriores de medicina humana (Augusto *et al.*, 1998; Chiramana *et al.*, 2013; Miller *et al.*, 1971).

#### 4.3 Isolados bacterianos identificados

Os isolados bacterianos identificados neste estudo foram: *Pseudomonas* spp. (20%); *Staphylococcus* spp. (13%); *Escherichia coli* (10%); *Corynebacterium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii* e *Streptococcus* spp. todos com uma percentagem de 7%; e *Actinomyces* sp., *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Pasteurella multocida*, *Porphyromonas asacharolytica*, *Prevotella* sp., *Proteus* sp. e *Vibrio vulnificus* todos com uma percentagem de 3%.

- ***Pseudomonas* spp.**

*Pseudomonas* spp. foram isoladas nos casos 3 e 4 do grupo G1, e nos caos 6, 7, 8 e 14 do grupo G2, sendo o género bacteriano mais prevalente com 20% do total de isolados bacterianos (Tabela 5). No estudo de Braga *et al.* (2005), *Pseudomonas* spp. foram igualmente isoladas em amostras colhidas de locais saudáveis em cães pastor alemão. Resultados semelhantes foram obtidos por Riggio *et al.* (2011) que identificou por técnica de sequenciação do 16S rRNA *Pseudomonas* numa frequência de 30,9%, tendo sido, à semelhança do presente estudo, a espécie bacteriana mais prevalente nas amostras colhidas tanto de cães saudáveis, como de cães com gengivite e periodontite. O autor mencionado identificou no seu estudo as seguintes espécies bacterianas *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas neneri*, *Pseudomonas* sp. e *Pseudomonas stutzeri*, quer em

amostras colhidas de cães saudáveis, quer de cães com periodontite. Contudo, *P. aeruginosa* foi isolada apenas em amostras de animais saudáveis, contrariamente aos resultados obtidos neste estudo, em que *Pseudomonas* sp. foi isolada somente de animais com periodontite (Riggio *et al.*, 2011). Também Bota *et al.* (2010) isolaram *Pseudomonas* spp. (5,55%), mas só em cães com estádios de doença periodontal graves, numa percentagem de 16.6%.

*P. aeruginosa* foi também identificada em medicina humana como sendo um dos principais colonizadores das tubagens de água de unidades dentárias, sendo alvo de estudo como agente patogénico oportunista em procedimentos dentários (Barbeau *et al.*, 1996; Pankhurst & Coulter, 2007).

- ***Staphylococcus* spp.**

*Staphylococcus* foi isolado no total de 13 % das amostras. *Staphylococcus aureus* foi isolado e identificado nas amostras dos casos 5, 12 e 15 do G2 e *Staphylococcus chromogenes* no caso 8 do G2 (Tabela 5).

No estudo de Braga *et al.* (2005), espécies bacterianas pertencentes ao género *Staphylococcus* foram isoladas e identificadas na microbiota oral de canídeos saudáveis e com doença periodontal, nomeadamente: *Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus hyicus hyicus*, *Staphylococcus hyicus chromogens*, *Staphylococcus xylosus*, *Staphylococcus saccharolyticus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus hominis* e *Staphylococcus auricularis*. *S. hyicus chromogenes* foi identificado numa amostra colhida de uma área oral saudável e noutra com lesão de periodontite.

No estudo de Elliot *et al.* (2005) foi isolado *S. epidermidis* (< 1%) de amostras de saliva colhidas de cinco cães, mas comparativamente não foi isolado de nenhuma das amostras de placa dentária de nove cães.

Num total de amostras de placa bacteriana colhidas de 18 cães, *Staphylococcus* spp. foi o género bacteriano mais prevalente, identificado em 72,22% do total de amostras. Na avaliação da distribuição de *Staphylococcus* em cães com diferentes estádios de doença periodontal, *Staphylococcus* foi identificado em todos os estádios com uma frequência sempre igual ou superior a 50% (Bota *et al.* 2010). Também Garcia *et al.* (2012) isolaram *Staphylococci* coagulase negativa (90%) e *S. epidermidis* (10%) em amostras de placa bacteriana supragengival em cães da raça Beagle com periodontite induzida.

Em nenhum dos estudos bibliográficos consultados existe referência à espécie *S. aureus* na composição da microbiota oral de canídeos. *S. aureus* foi isolado em canídeos de amostras colhidas das vias respiratórias superiores, olhos, urina, tracto reprodutivo, abscessos e pele

(Hoekstra & Paulton, 2002). Tanto em medicina humana como em medicina veterinária *S. aureus* é um agente etiológico mundialmente distribuído e com uma elevada prevalência em infecções nosocomiais, sendo responsável por uma grande variedade de doenças, desde infecções cutâneas a doenças sistêmicas potencialmente fatais (Yarwood, Bartels, Volper & Greenberg, 2004). Tem sido alvo de estudo em medicina veterinária e humana pela prevalência de *Staphylococcus aureus* resistente à meticilina (*MRSA*), que são resistentes aos antimicrobianos  $\beta$ -lactâmicos e possivelmente a outros antimicrobianos, e transmissíveis entre o Homem e animais (Leonard & Markey, 2008; Loeffler *et al.*, 2005; Weese *et al.*, 2004).

O facto de se ter isolado *S. aureus* em 3 dos casos clínicos ilustra bem o risco para a saúde pública da realização da destartarização dentária em canídeos sem as necessárias medidas de higiene.

- ***Escherichia coli***

Nos casos 2 do grupo G1, bem como 11 e 12 do grupo G2 isolou-se *Escherichia coli*, com uma percentagem de 7% no total de isolados bacterianos (Tabela 5).

Segundo Braga *et al.* (2005), num estudo com cães da raça Pastor Alemão, o isolamento de *E. coli* verificou-se apenas em amostras de cães com periodontite, não tendo sido identificada esta espécie em nenhuma das amostras colhidas de animais saudáveis. Bota *et al.* (2010) isolou *E. coli* de cães com doença periodontal com uma prevalência de 50%, tendo sido isolada em cães com diferentes estádios de gravidade de doença periotontal.

O mesmo se verificou no presente estudo, em que *E. coli* foi isolada de cães com doença periodontal.

- ***Corynebacterium spp.***

Nos casos 2 do grupo G1 e 11 do grupo G2 foram isoladas *Corynebacterium spp.*, com uma percentagem de 7% do total de amostras bacterianas (Tabela 5). Estes resultados estão de acordo com os estudos de Elliot *et al.* (2005), que identificaram *Corynebacterium* na microbiota oral de cães com doença periodontal, numa percentagem total de 5%. Riggio *et al.* (2011) identificaram *Corynebacterium sp.* em 3,3% do total de espécies bacterianas isoladas de cães com gengivite e 5,6% do total de espécies bacterianas isoladas de cães com periodontite. Por seu turno, Garcia *et al.* (2012) isolaram *Corynebacterium sp.* em 80% das amostras da placa supragengival de 10 cães de raça Beagle com doença periodontal induzida. Takada e Hirasawa (2000), concluíram dos seus trabalhos que *Corynebacterium* é um agente etiológico da doença periodontal em canídeos.

Relativamente à espécie *Corynebacterium glucoronolyticum*, identificada no caso 2 do G1, não existe até hoje referência na bibliografia quanto ao seu isolamento na cavidade oral de

canídeos, sendo o presente trabalho a primeira referência à identificação de *C. glucoronolyticum* de amostras provenientes da cavidade oral de cães com doença periodontal.

Em medicina humana, *C. glucoronolyticum* foi identificado num estudo recente em infecções nosocomiais emergentes de feridas cirúrgicas por coliformes (Rizvi *et al.*, 2013).

Mais uma vez, este facto ilustra bem o risco para a saúde pública da realização de destarização dentária em canídeos sem as necessárias medidas de higiene.

- ***Eggerthella lenta***

A espécie bacteriana *Eggerthella lenta* foi isolada unicamente no grupo G2 nos casos 6 e 15, com uma percentagem de 7% do total de isolados bacterianos (Tabela 5). Não foram encontradas referências de *E. lenta* na bibliografia consultada sobre a constituição da microbiota oral de canídeos saudáveis ou com doença periodontal. O presente trabalho é a primeira referência à identificação de *E. lenta* de amostras provenientes da cavidade oral de cães com doença periodontal.

Em medicina humana sabe-se que *E. lenta* compõe a microbiota intestinal do homem, mas também foi isolada na microbiota que compõe as bolsas periodontais de pacientes com doença periodontal (Nakazawa, Miyakawa, Fujita & Kamaguchi, 2011; Blaut *et al.*, 2002).

Mais uma vez, este facto ilustra bem a originalidade do presente trabalho, a necessidade de prosseguir estudos nesta área e os riscos de contaminação do paciente, de outros pacientes através de fomites e do pessoal técnico em contacto com o animal.

- ***Ralstonia pickettii***

*Ralstonia pickettii* foi isolada e identificada no caso 1, pertencente ao grupo G1e no caso 15 do grupo G2, com uma percentagem de 7% (Tabela 5). Esta espécie bacteriana não se encontra referida na bibliografia consultada sobre a microbiota oral de canídeos saudáveis ou com doença periodontal. O presente estudo é a primeira referência de *R. pickettii* em amostras colhidas de canídeos com doença periodontal.

Em medicina humana, *R. pickettii* é considerada um agente etiológico de infecções nosocomiais (Ryan, Pembroke & Adley, 2006). Os casos identificados em medicina humana encontram-se relacionados com a administração de soluções contaminadas, como água destilada, água para a preparação de soluções injectáveis e soluções aquosas de clorexidina (Fernandez *et al.*, 1996; Moreira *et al.*, 2005). No estudo realizado por Szymańska (2007), em que foi realizada uma análise bacteriológica à água presente nos reservatórios de várias unidades dentárias, verificou-se que as espécies *R. pickettii* compunham 94% do total de bactérias identificadas.



Mais uma vez, o facto de esta bactéria ser considerada um agente etiológico de infecções nosocomiais ilustra bem os riscos corridos pelo pessoal técnico.

- ***Streptococcus* spp.**

*Streptococcus* (7%) foi isolado e identificado nas amostras colhidas dos casos 2 do grupo G1 (*Streptococcus constellatus*) e do caso 15 do G2 (*Streptococcus* sp.) (Tabela 5).

*Streptococcus* foi isolado a nível supragengival de amostras de placa bacteriana desde os primeiros estudos de composição da placa bacteriana em cães da raça Beagle por Syed *et al.* (1980, 1981) e por Svanberg *et al.* (1982). No estudo de Elliot *et al.* (2005) foram isolados e identificados *S. minor* e *S. bovis* compondo apenas <1% do total de espécies bacterianas identificadas nas amostras de placa bacteriana colhidas. Contrariamente à placa bacteriana, na saliva foi identificado *Streptococcus* com uma frequência de 18,2%. Hardham *et al.* (2005) identificaram também *Streptococcus bovis* em amostras de placa bacteriana de bolsas periodontais de cães, com uma percentagem de 3%. Bota *et al.* (2010) identificaram *Streptococcus* spp. em 55,6% dos animais em que foi colhida amostra de placa bacteriana, tendo-se verificado uma correlação positiva com os estadios de doença periodontal iniciais. Garcia *et al.* (2012) identificaram *Streptococcus β hemolítico* (30%) e *Streptococcus epidermitis* (10%) em amostras de placa supragengival de cães com periodontite induzida.

- ***Actinomyces* sp.**

*Actinomyces* sp. foi identificado no total de amostras com uma percentagem bastante reduzida (4%), tendo sido isolado no caso 10, pertencente ao grupo G2 de cães (Tabela 5). Este género foi também isolado por Syed *et al.* (1980,1981) e por Svanberg *et al.* (1982) associado à periodontite em cães da raça Beagle. Num estudo realizado por Domingues *et al.* (1999), *Actinomyces* spp. (*Actinomyces canis*, *Actinomyces bowdenni*, *Actinomyces hordeovulneris* e *Actinomyces coleocanis*) foram isoladas também com uma baixa frequência (3,6%) de amostras colhidas em cães com sinais clínicos de doença periodontal. No estudo de Elliot *et al.* (2005), *Actinomyces* foi isolado na saliva de canídeos com uma frequência de 26% e na placa dentária com uma frequência de 12%. Também Riggio *et al.* (2011), num estudo de identificação de bactérias associadas à doença periodontal em cães pela técnica de sequenciação do 16s rRNA, identificaram *Actinomyces canis* (19,4%) nas amostras colhidas de cães com periodontite. Takada e Hirasawa (2000) concluíram que as bactérias pertencentes ao género *Actinomyces* são agentes patogénicos da doença periodontal em canídeos.

- ***Clostridium beijerinckii***

A espécie bacteriana *Clostridium beijerinckii* foi isolada no caso 1, pertencente ao grupo G1 de cães, apresentando uma percentagem de 3% do total de isolados (Tabela 5). Exemplos do género *Clostridium*, como *Clostridium leptum*, *Clostridium hathewayi* e *Clostridium litorale*

foram isolados noutros estudos com o objectivo de identificar as bactérias presentes em canídeos com doença periodontal, embora em percentagens pouco significativas (< 5%) (Elliot *et al.*, 2005; Riggio *et al.*, 2011). A espécie isolada no presente estudo, *Clostridium beijerinckii*, não foi descrita na bibliografia, sendo o presente trabalho a primeira referência à identificação desta espécie bacteriana de amostras provenientes da cavidade oral de cães com doença periodontal, o que reforça a importância deste estudo preliminar.

Em medicina humana, *C. beijerinckii* foi identificado associado a casos clínicos de pacientes com infecção do canal radicular (Júnior *et al.*, 2011; Ledezma-Rasillo *et al.*, 2010). Em canídeos *C. beijerinckii* foi isolado de amostras de fezes de cães saudáveis e com diarreia (Zerbini & Ossiprandi, 2007).

- ***Enterococcus faecalis***

*Enterococcus faecalis* foi isolado no caso 11, grupo G2, com uma percentagem de 3 % do total de isolados bacterianos (Tabela 5). Na bibliografia consultada não existem referências ao isolamento de microrganismos *Enterococcus* da cavidade oral, quer de canídeos saudáveis, quer com doença periodontal, sendo o presente trabalho a primeira referência.

Em medicina humana, foi identificada a presença de *E. faecalis* na microbiota oral de pacientes com periodontite (Souto & Colombo, 2008; Sun, Sundsfjord & Song, 2012). No cão *E. faecalis* é um microrganismo comensal do aparelho gastro-intestinal, tendo sido isolado em amostras de fezes (Harwood *et al.*, 2004).

- ***Morganella morganii***

*Morganella morganii* foi identificada no caso 8 do grupo G2, com uma percentagem de 3% do total de isolados bacterianos (Tabela 5). Nos estudos realizados sobre o isolamento de microrganismos de amostras provenientes da cavidade oral de cães saudáveis ou com doença periodontal não existem referências a esta espécie bacteriana.

*M. morganii* foi isolada quer no intestino, quer em amostras de fezes no Homem e no cão. Encontra-se igualmente descrita em infecções de feridas cutâneas, bem como infecções oportunistas a nível respiratório, urinário e hepático (Hara, Brenner & Michael, 2000). Relativamente ao caso 8 do grupo G2, este canídeo apresentava uma fístula infra-orbitária.

- ***Pasteurella multocida***

*Pasteurella multocida* foi identificada no caso 1 do grupo G1, com uma frequência de 3% do total de amostras bacterianas isoladas (Tabela 5).

Braga *et al.* (2005) verificaram no seu estudo uma alta prevalência do género *Pasteurella* (*Pasteurella canis*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella peneumotopica* e *Pasteurella haemolityca*), sugerindo que o cão pode ser um reservatório natural destas bactérias. *P. multocida* foi isolada com maior frequência em amostras de canídeos colhidas de lesões da

doença periodontal. À semelhança de Braga *et al.* (2005), também Riggio *et al.* (2011) identificaram *Pasteurella canis*, *Pasteurella dogmatis*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella stomatis* e *Pasteurella trehalosi*, tanto em animais saudáveis como em animais com doença periodontal. Contudo, contrariamente aos resultados obtidos por Braga *et al.* (2005), *P. multocida* foi identificada noutro estudo com maior prevalência em amostras colhidas de animais saudáveis pela técnica de sequenciação do 16S rRNA.

Num estudo recente de Dahlén *et al.* (2011), no qual foi estudada a microbiota predominante na placa subgengival de canídeos, foram identificadas *Pasteurella spp.* em 16,7% dos cães com periodontite. Além disso, *P. multocida* é isolada com frequência de feridas por mordedura de cães, tanto em cães como em humanos (Abrahamian & Goldstein, 2011; Mouro *et al.*, 2010).

- ***Porphyromonas asaccharolytica***

A espécie *Porphyromonas asaccharolytica* foi identificada no caso 15, grupo G2, com uma frequência total de 3% (Tabela 5).

Estes resultados estão de acordo com Sarkiala *et al.* (1993) e Renvert (1996), que também identificaram *Porphyromonas* em amostras colhidas de cães com periodontite. Domingues *et al.* (1999) identificaram igualmente *Porphyromonas spp.* em 2,4% do total de amostras colhidas da placa subgengival de cães com periodontite. Naquele estudo, à semelhança dos resultados obtidos no presente estudo, revelou-se uma das espécies menos prevalentes.

No estudo de Braga *et al.* (2005) da placa bacteriana de 9 cães, *Porphyromonas* foi dos géneros prevalentes em amostras de lesões periodontais.

Hardham *et al.* (2005) avaliaram a presença de bactérias BPAB em bolsas periodontais de cães, tendo sido identificadas várias espécies como: *Porphyromonas salivosa*, *Porphyromonas dentivans*, *Porphyromonas gulae*, *Porphyromonas cansulci*, *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas canis*, *Porphyromonas levii* e *Porphyromonas caniningivalis*; mas *Porphyromonas asaccharolytica* não foi identificada. Elliot *et al.* (2005) identificaram *Porphyromonas* como género predominante (20%) nas amostras colhidas de placa bacteriana de cães. Entre as espécies identificadas naquele estudo encontraram-se *P. gulae*, *P. canoris*, *P. caniningivalis* e *P. cansulci*, mas não foi identificada *P. asaccharolytica* (Elliot *et al.*, 2005). Riggio *et al.* (2011) identificaram *P. caniningivalis* (16,1%) como a segunda espécie bacteriana mais prevalente nas amostras de canídeos saudáveis, ou com gengivite e periodontite. Mas *P. asaccharolytica* não foi identificada naquele estudo.

Por seu turno, Dahlen *et al.* (2011), na avaliação das espécies bacterianas predominantes na placa subgengival de canídeos, identificaram várias espécies de *Porphyromonas* diferentes (*P. canoris*, *P. gulae*, *P. caniningivalis* e *P. crevioricanis*), tendo sido a espécie *P.*

*crevioricannis* a predominante na microbiota subgengival canina. Também neste estudo *P. asaccharolytica* não foi identificada.

Nenhuns destes autores referem a presença de *P. asaccharolytica*, espécie identificada no presente estudo, pelo que se trata da primeira referência à identificação desta espécie bacteriana em amostras provenientes da cavidade oral de cães com doença periodontal.

Em medicina humana, *P. asaccharolytica* encontra-se presente a nível oral, tendo sido identificada em amostras colhidas de pacientes com doença periodontal (Nonnenmacher, Mutters & Jacoby, 2001; Slots & Genco, 1979).

- ***Prevotella* sp.**

Amostras bacterianas pertencentes a *Prevotella* foram isoladas no caso 1 do grupo G1, com uma frequência 3% (Tabela 5). No estudo de Renvert (1996) em canídeos verificou-se uma predominância da espécie *Prevotella intermedia* em lesões com periodontite induzida em comparação com locais saudáveis. Domingues *et al.* (1999) também identificaram *Prevotella* como o género predominante em amostras colhidas de bolsas periodontais de cães. Braga *et al.* (2005) no seu estudo em cães identificaram as espécies *Prevotella intermedia*, *Prevotella ruminicola ruminicola*, *Prevotella heparinolytica* e *Prevotella bivia*, sendo mais frequente o seu isolamento em amostras colhidas de lesões periodontais comparativamente a locais saudáveis. Por seu turno, Elliot *et al.* (2005) isolaram *Prevotella* sp. de placa bacteriana de canídeos com periodontite, com prevalências de <5 %, o que se encontra de acordo com os resultados obtidos no presente estudo.

- ***Proteus* sp.**

No caso 15 do grupo G2, isolou-se *Proteus* sp., com uma frequência de 3% do total de amostras bacterianas (Tabela 5). No estudo de Garcia *et al.* (2012), foi isolado *Proteus mirabilis* (10%) em amostras de placa supragengival de 10 cães de raça Beagle com doença periodontal induzida. Também Bota *et al.* (2010), num estudo de identificação das bactérias presentes nos diferentes estádios de doença periodontal do cão, identificaram *Proteus* spp. em 27,7% do total de amostras. *Proteus* spp. foram isoladas neste estudo de Bota *et al.* (2010) em cães que apresentavam estádios de doença periodontal 1,2,3, mas nenhum no estadio 4 o que difere da amostra do caso 15 do grupo G2, que apresentava estadio 4.

- ***Vibrio vulnificus***

*Vibrio vulnificus* foi isolado e identificado do caso 15 do grupo G2, com uma percentagem de 3% do total de amostras (Tabela 5). Esta espécie bacteriana não foi identificada em nenhum dos estudos descritos na revisão bibliográfica de microbiota oral em canídeos saudáveis e com doença periodontal.

*V. vulnificus* encontra-se presente em águas marinhas e estuarinas, sendo mais prevalente nos meses de temperaturas mais elevadas, entre Abril e Outubro. Em medicina humana infecções por esta espécie bacteriana encontram-se associadas a problemas gastrointestinais pelo consumo de moluscos marinhos crus, a infecções de feridas cutâneas e a infecções oculares pelo contacto com moluscos ou águas marinhas em que a bactéria se encontra presente (Matsuo & Ichimura, 2004; Myers, 2006; Strom & Paranjpye, 2000).

#### **4.4 Comparação entre grupos experimentais**

Apesar da dimensão da amostra em estudo em cada um dos grupos não ser suficientemente extensa para permitir retirar conclusões estatisticamente significativas, vão-se tecer algumas considerações sobre a microbiota presente no grupo de animais não tratados (G1), tratados com associação de amoxicilina com ácido clavulânico (G2 AMC) ou metronidazol com espiramicina (G2 ESP+MTZ).

Comparando os grupos G1 e G2, apenas no grupo G1, foram identificados *Prevotella* sp., *Pasteurella multocida* e *Clostridium beijerinckii*, o que sugere que as associações, quer amoxicilina com ácido clavulânico, quer de metronidazol com espiramicina foram eficazes contra estes microrganismos.

*Prevotella* spp. têm sido identificadas em medicina humana como um dos principais microrganismos presentes na periodontite produtor de  $\beta$ -lactamases (Handal, Olsen, Walker & Caugant, 2005; Rams, Degener & van Winkelhoff, 2013). No âmbito da medicina humana, em estudos de susceptibilidade bacteriana aos antimicrobianos em amostras colhidas de pacientes com doença periodontal, *Prevotella* spp. foi susceptível à associação de amoxicilina e ácido clavulânico e de metronidazol e espiramicina (Handal *et al.*, 2005; Poulet, Duffaut, Barthet & Brumpt, 2005; Roche & Yoshimori, 1997).

Em relação à *P. multocida*, pela sua presença tanto na microbiota oral de cães saudáveis como com periodontite, tem sido defendido por alguns autores que o cão é reservatório natural deste microrganismo (Braga *et al.*, 2005).

Num estudo de antibioterapia de feridas infectadas por mordedura de cães com isolamento de *P. multocida*, a associação de amoxicilina com ácido clavulânico revelou-se eficaz, sendo dos antimicrobianos de primeira escolha (Goldstein & Citron, 1998; Mouro *et al.*, 2010). Num estudo de análise microbiológica do efeito da antibioterapia da combinação de metronidazol e espiramicina sobre a placa bacteriana, *P. multocida* foi isolada no início do estudo e 15 dias após a administração de metronidazol e espiramicina. Todos os microrganismos isolados e identificados neste estudo, incluindo *P. multocida*, se revelaram resistentes ao metronidazol. Os autores defendem que tal se deve ao facto de *P. multocida* ser um microrganismo comensal da cavidade oral em cães (Fonseca *et al.*, 2011).

Em estudos de susceptibilidade aos antimicrobianos, *Clostridium* spp. foram susceptíveis tanto à associação de amoxicilina e ácido clavulânico, como ao metronidazol que é eficaz contra anaeróbios estritos, pelo que *C. beijerincki* também será susceptível a estes antimicrobianos (Goldstein & Citron, 1986; Wust, 1977).

Tanto no grupo G2 AMC como G2 ESP+MTZ verificou-se crescimento de microrganismos diferentes de G1. Poderá ter ocorrido recolonização mesmo com antimicrobianos eficazes, permanência de microrganismos resistentes, possível aquisição de resistências, ou contaminação secundária (pele, fezes, água).

No grupo G2 ESP+MTZ, comparativamente ao grupo G2 AMC, nos casos em que houve crescimento bacteriano, foi isolado um maior número de espécies bacterianas por animal. Tal facto sugere uma maior eficácia da associação de amoxicilina com ácido clavulânico. Com a dimensão da nossa amostra não foi possível confirmar esta suspeita.

Nos casos 9 e 13 do grupo G2 ESP+MTZ não se verificou crescimento bacteriano das amostras isoladas, pelo que aparentemente o antimicrobiano terá sido eficaz no controlo da microbiota oral nestes canídeos, contudo outros factores devem ser considerados como possíveis erros na técnica de colheita e de processamento laboratorial.

*Pseudomonas aeruginosa* foi isolada com maior prevalência (20%) e nos três grupos de cães que compunham este estudo, grupos G1, G2 AMC e G2 ESP+MTZ. Trata-se de uma bactéria multirresistente aos antimicrobianos, entre eles a amoxicilina com ácido clavulânico (Pedersen *et al.*, 2007). Estudos de susceptibilidade aos antimicrobianos de *P. aeruginosa* isolada da cavidade oral humana revelaram que é resistente à associação de metronidazol e espiramicina (Santos & Jorge, 2000).

#### **4.5 Riscos para a saúde animal e saúde pública**

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, na realização da destartarização dentária de canídeos verifica-se que existe disseminação de microrganismos presentes na sua cavidade oral pela formação de aerossóis e gotículas. Assim, é possível a contaminação directa através da manipulação por parte do médico veterinário e dos auxiliares que realizam o procedimento dentário - mas também indirecta devido às propriedades dos aerossóis e gotículas que possuem uma área de dispersão e que acabam por precipitar (Miller, Micik, Abel, & Ryge, 1971).

A dispersão dos aerossóis dentários na realização do procedimento de destartarização possibilita a contaminação das vias respiratórias inferiores e das mucosas ocular, oral e nasal, quer dos animais quer do pessoal médico e técnico, o que se confirma pelos resultados do presente trabalho. Por outro lado, a contaminação dos instrumentos,

aparelhos e área de trabalho possibilita a contaminação cruzada de outros animais (Kedjarune et al. 2000; Leggat & Kedjarune, 2001).

O grau de contaminação bacteriana encontra-se directamente relacionado com a proximidade da fonte dos aerossóis, ou seja, da ponta do destartarizador, sendo o risco mais elevado para o animal que está a ser intervencionado e para o operador do aparelho de destartarização (Prospero, Savini, & Anmio, 2003).

#### **4.6 Medidas de higiene aconselhadas**

Após a análise dos resultados, recomenda-se a aplicação de medidas de prevenção durante a realização de destartarizações dentárias em cães, sobretudo quando se utilizam aparelhos de destartarização mecânicos. Destaca-se pela sua importância a implementação de medidas de protecção dos aerossóis libertados no procedimento dentário, quer para o animal, quer para o médico veterinário e assistentes, de modo a prevenir a contaminação por agentes patogénicos.

Os procedimentos dentários devem ser realizados num espaço próprio e isolado da área cirúrgica estéril (Gorrel, & Nind, 2008; Holmstrom et al., 2013). Aconselha-se a implementação de um sistema de ventilação com filtros e lâmpadas de radiação ultravioleta neste mesmo espaço de trabalho (Szymanska, 2007; William et al., 1970). Toda a área e superfícies de trabalho, bem como os instrumentos e aparelhos devem ser limpos, desinfectados e esterilizados com produtos aprovados, com uma periodicidade adequada ao seu risco de contaminação e sempre de acordo com as normas e recomendações da empresa fornecedora (Holmstrom et al., 2013; Kesel, 2000; Kohn et al., 2004; Samaranayke, 2005).

Nos últimos anos, em medicina dentária humana tem sido dado especial destaque à água de irrigação e arrefecimento do aparelho de destartarização dentária como fonte de contaminação e eventual origem de infecções cruzadas. Deste modo, deve-se efectuar um controlo periódico da qualidade de água, desinfectar as tubagens e reservatórios de água e assegurar a existência de uma válvula eficiente no destartarizador (Kohn, 2003; Szymanska, 2005, 2007).

Relativamente à protecção do cão, que está a ser submetido ao procedimento de destartarização, é importante proteger as suas vias respiratórias através da intubação endotraqueal e colocação de uma compressa no pós-boca e protecção dos olhos, nomeadamente com a aplicação de uma pomada de lágrimas artificiais (Gorrel, 2013; Kesel, 2000). Como prevenção, com vista à redução da carga microbiana dos aerossóis libertados, encontra-se indicado a lavagem da cavidade oral do canídeo com uma solução de clorexidina a 0,12% (Niemiec, 2008b). E como medida de controlo, para reduzir a dispersão dos mesmos aerossóis, está indicada a utilização concomitante de um aparelho de sucção (Gorrel, 2013; Szymanska, 2007).

Pelo risco que os aerossóis de destartarização dentária de canídeos são para o médico veterinário e assistentes, tal como se verificou pelos resultados obtidos neste trabalho, devem usar equipamentos de protecção individual e tomadas medidas de higiene e desinfecção. Destaca-se o uso de vestuário de trabalho ou bata descartável e de luvas, máscara e óculos de protecção cirúrgicos (Kohn et al., 2004; Samaranayka, 2005).

#### **4.7 Limitações do estudo**

Pretendíamos ter uma amostra de cães submetidos a destartarização equivalente em dimensão nos grupos G1 e G2, para posterior comparação dos resultados obtidos.

Tal não foi possível, pois os casos que se apresentaram ao Hospital Veterinário da FMV no período em que decorreu o estudo foram considerados graves, tendo sido prescrita terapêutica antimicrobiana à maioria dos animais, não sendo, possível comparar os resultados obtidos nos dois grupos de animais. Seria, no entanto, de prever que no grupo de animais não tratados o risco de contaminação dos aerossóis libertados com bactérias seria maior.

Teria sido importante ter obtido uma amostra de maior dimensão, mas tal não foi possível devido a limitações de tempo e de ordem laboratorial e financeira.

Neste estudo recorreu-se a testes de identificação bioquímica para identificação das diferentes espécies bacterianas isoladas, que apresentam limitações a nível de sensibilidade e especificidade. O desejável seria de futuro utilizar testes como a técnica de sequenciação do 16S rRNA ou hibridização DNA-DNA, à semelhança dos estudos mais actuais sobre a composição da placa bacteriana em cães com doença periodontal.



## 5. Conclusões e perspectivas futuras

O presente estudo preliminar, que se tenha conhecimento, foi o primeiro a fazer uma análise da composição qualitativa bacteriana dos aerossóis libertados na destartarização dentária de canídeos com doença periodontal e a avaliar os riscos para os pacientes e para os técnicos, destes aerossóis.

As bactérias isoladas e identificadas foram: *Pseudomonas* spp. (20%); *Staphylococcus* spp. (13%); *Escherichia coli* (10%); *Corynebacterium* spp., *Eggerthella lenta*, *Ralstonia pickettii* e *Streptococcus* spp. todos com uma percentagem de 7%; e *Actinomyces* sp., *Clostridium beijerinckii*, *Enterococcus faecalis*, *Morganella morganii*, *Pasteurella multocida*, *Porphyromonas asacharolytica*, *Prevotella* sp., *Proteus* sp. e *Vibrio vulnificus* todos com uma percentagem de 3%.

Das amostras de aerossóis obtidas foram pela primeira vez identificadas as seguintes espécies bacterianas: *S. aureus*, *C. glucoronolyticum*, *E. lenta*, *R. pickettii*, *C. beijerinckii*, *E. faecalis*, *M. morganii*, *P. assacharolytica* e *V. vulnificus*, não existindo referência às mesmas em estudos sobre a composição da microbiota microbiana oral de cães saudáveis ou com doença periodontal.

As espécies bacterianas isoladas e identificadas no presente estudo são um risco para a saúde animal e pública, destacando-se o risco de contaminação dos olhos, vias respiratórias superiores e pele, quer do animal, quer do veterinário e auxiliares.

Assim, devem ser tomadas medidas de segurança e higiene, nomeadamente medidas de prevenção com controlo do grau de contaminação bacteriana das possíveis fontes, medidas de protecção do animal e veterinário e medidas de correcção sempre que necessário.

Com tudo o que foi mencionado anteriormente, seria de grande interesse dar continuidade ao tema investigado, com uma amostra de animais maior para ser possível tirar conclusões estatisticamente significativas, com dois grupos (com e sem terapêutica antimicrobiana) homogêneos. Além disso, podem ser estudadas individualmente as diferentes origens dos aerossóis bacterianos, como a água do aparelho de destartarização, o aparelho de destarização em si e o ar da sala de procedimentos, de modo a tomar medidas de controlo mais específicas, como tem sido feito em medicina dentária humana.

## BIBLIOGRAFIA

- Abrahamian, F.M. & Goldstein, E.J.C. (2011). Microbiology of animal bite wound infections. *Clinical Microbiology Reviews*, 24(2), 231–246.
- Addy, M. & Martin, M.V. (2003). Systemic antimicrobials in the treatment of chronic periodontal diseases: a dilemma. *Oral Diseases*, 9(1), 38-44.
- Afonso, C., Braga, B., Maria, C., Resende, F., Cristina, A., Rodrigues, N & Roque, A. (2005). Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. *Ciência Rural*, 35(2), 385–390.
- Al Wazzan, K., Almas, K., Al Qahtani, M.Q., Al Shethri, S.E. & Khan, N. (2001). Prevalence of ocular injuries, conjunctivitis and use of eye protection among dental personnel in Riyadh, Saudi Arabia. *International Dental Journal*, 5, 89–94.
- Albandar, J.M. (2002). Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontology 2000*, 29, 177–206.
- Al-Haroni, M.H., Skaug, N. & Al-Hebshi (2005). Prevalence of subgingival bacteria resistant to aminopenicillins and metronidazole in dental patients from Yemen and Norway. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27, 217-223.
- Allen, M. & Burr, D. (2008). Mandibule matrix necrosis in beagle dogs after 3 years of daily oral biphosphonate treatment. *Journal of Maxillofacial Surgery*, 66, 987-994.
- Allison, D.G. (2003). The biofilm matrix. *The Journal of Bioadhesion and Biofilm Research*, 19(2), 139–150.
- Attström, R., Graf de Beer, M. & Schroeder, H.E. (1975). Clinical and histologic characteristics of normal gingiva in dogs. *Journal of Periodontal Research*, 10(3), 115–127.
- Augusto, J., Discacciati, C., Sander, H.H., Silva, L., Castilho, D., Lúcia, V. & Resende, S. (1998). Verificação da dispersão de respingos durante o trabalho do cirurgião - dentista. *Pan American Journal of Public Health*, 3(2), 84–87.
- Barbeau, J., Tanguay, R., Faucher, E., Avezard, C., Trudel, L., Côté, L. & Prévost, A.P. (1996). Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(11), 39–54.
- Bartlett, J.G. (1993). Anaerobic bacterial infections of the lung and pleural space. *Clinical Infectious Diseases*, 16 (4), 248–255.
- Basu, M.K., Browne, R.M., Potts, A.J. & Harrington, J.M. (1988). A survey of aerosol-related symptoms in dental hygienists. *The Journal of the Society of Occupational Medicine*, 38, 23–25.
- Beighton, D., Smith, K. & Hayday, H. (1986). The growth of bacteria and the production of exoglycosidic enzymes in the dental plaque of macaque monkeys. *Archives of Oral Biology*, 31(12), 829–835.

- Bellows, J. (2010). Dental decisions: strategies to treat periodontal disease. *DVM 360 Magazine*. Acedido em Nov. 7, 2013, disponível em <http://veterinarynews.dvm360.com/dvm/article/articleDetail.jsp?id=682266&pageID=7>
- Bellows, J. (Ed.) (2008). Periodontal Equipment, Materials, and Techniques. *Small animal dental equipment, materials and techniques*. (pp. 115–173). New Jersey: Wiley - Blackwell.
- Bennett, A.M., Fulford, M.R., Walker, J.T., Bradshaw, D.J., Martin, M.V & Marsh, P.D. (2000). Microbial aerosols in general dental practice. *British Dental Journal*, 189(12), 664–667.
- Berlutti, F., Testarelli, L., Vaia, F., Luca, M. & Dolci, G. (2003). Efficacy of anti-retraction devices in preventing bacterial contamination of dental unit water lines. *Journal of Dentistry*, 31(2), 105–110.
- Bernimoulin, J. (2003). Recent concepts in plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(5), 7–9.
- Beuchat, M., Busslinger, A., Schmidlin, P.R., Michel, B., Lehmann, B. & Lutz, F. (2001). Clinical comparison of the effectiveness of novel sonic instruments and curettes for periodontal debridement after 2 months. *Journal of Clinical Periodontology*, 21, 1145-1150.
- Bezerra, M.M., Brito, G.A.C., Ribeiro, R.A. & Rocha, F.A.C. (2002). Low-dose doxycycline prevents inflammatory bone resorption in rats. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 35, 613-616.
- Biscarde, A.O., Andrade, L.P., Bittencourt, S. & Ribeiro, E.P. (2010). Diretrizes para a utilização adjunta da antibioticoterapia sistêmica no tratamento das doenças periodontais. *Innovations Implant Journal*, 5(2), 51-59.
- Bjone, S., Brown, W., Billingham, J., Harris, A. & Genity, P.M. (2005). Influence of chewing on dental health in dogs. Acedido em Set. 14, 2013, disponível em: [http://www.une.edu.au/data/assets/pdf\\_file/0010/28756/bjone-et-al-ava-2005-dental-paper.pdf](http://www.une.edu.au/data/assets/pdf_file/0010/28756/bjone-et-al-ava-2005-dental-paper.pdf)
- Blaut, M., Collins, M.D., Welling, G.W., Doré, J., van Loo, J. & de Vos, W. (2002). Molecular biological methods for studying the gut microbiota: the EU human gut flora project. *The British Journal of Nutrition*, 87(2), 203–211.
- Bota, A., Muste, A., Beteg, F., Scurtu, L. & Krupaci, A. (2010). Microbiological investigations in dogs with periodontal disease. *Cluj Veterinary Journal*, 17(1), 59-63.
- Braga, C., Resende, C., Pestana, A., Carmo, L., Costa, J., Silva, L., Assis, L., Lima, L., Farias, L. & Carvalho, M. (2005). Isolamento e identificação da microbiota periodontal de cães da raça Pastor Alemão. *Ciência Rural*, 35(2), 385-390.
- Brown, S.A. & Whiteley, M. (2007). A novel exclusion mechanism for carbon resource partitioning in *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *Journal of Bacteriology*, 189(17), 6407–6414.
- Brunsvold, M.A. & Melloning, J.T. (2000). Bone grafts and periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 1, 80-91.

- Buckley, C., Colyer, A., Skrzywanek, M., Jodkowska, K., Kurski, G., Gawor, J. & Ceregrzyn, M. (2011). The impact of home-prepared diets and home oral hygiene on oral health in cats and dogs. *The British Journal of Nutrition*, 106, 124–127.
- Burns, K.M., & Logan, E.I. (2007). Homecare prevention of periodontal disease. *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, 13-27 January, NACV publication. Acedido em Set. 14, 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/VT/013.asp?LA=1>
- Busscher, H.J., Cowan, M.M. & van der Mei, H.C. (1992). On the relative importance of specific and non-specific approaches to oral microbial adhesion. *FEMS Microbiology*, 8, 199–210.
- Caiafa, A. (2007). Oral Radiology. *Proceedings of the World Small Veterinary Association*, Sydney, Australia, 20-24 August, WSAVA publication. Acedido em Set. 12, 2013: [http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/17\\_20070323201101\\_abs.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/17_20070323201101_abs.pdf)
- Capík, I. (2010). Periodontal health vs. various preventive means in toy dog breeds. *Acta Veterinaria Brno*, 79, 637–645.
- Carciofi, A.C., Bazolli, R.S., Barbudo, G.R., Zanni, A. & Carvalho, A.Z. (2007). Efeito do biscoito extrusado com cobertura de pirofosfato de sódio sobre o cálculo e a placa dentária pré-existent em cães. *ARS Veterinaria*, 23(1), 47–53.
- Carmichael, D.T. (2007). Periodontal disease - strategies for preventing the most common disease in dogs. In *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, 13 - 27 January. Acedido em 14 Setembro, 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/090.asp?LA=1>.
- Chiramana, S., Hima Bindu O.S., Kishore Kadiyala, K., Prakash, M., Durga Prasad, T. & Chaitanya, S.K. (2013). Evaluation of minimum required safe distance between two consecutive dental chairs for optimal asepsis. *Journal of Orofacial Research*, 3, 12–15.
- Claydon, N. & Addy, M. (1996). Comparative single-use plaque removal by toothbrushes of different designs. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 1112-1116.
- Cleland, W. P. (2000). Nonsurgical periodontal therapy. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 15(4), 221–5.
- Coignoul, E. & Cheville, N. (1984). Calcified microbial plaque. Dental calculus of dogs. *The American Journal of Pathology*, 117(3), 499–501.
- Corba, N.H.C., Jansen, J. & Fidler, V. (1986). Artificial periodontal defects and frequency of tooth brushing in beagle dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 158–163.
- Corrêa, A.S., Maia, P.H.S., Bittencourt, R.H. & Silva, M.C. (2009). Occurrence of oral diseases in dogs (*Canis familiares*) and cats (*Felis catus*) assisted in veterinary dental service in the metropolitan area of Belém - Pará - Brazil. *Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress*, São Paulo, Brazil, 21- 24 July, 2009. Acedido em Out. 20, 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2009/lecture8/12.pdf?LA=1>
- Crossley, D. (2006). Oral Diagnosis - Clinical Approach. *Proceedings of the Wsava 2006 Congress*, Prague, Czech Republic, 11 October, 2006. Acedido em Out. 8, 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture7/Crossley1.pdf?LA=1>

- Cutler, C.W. & Jotwani, R. (2004). Antigen-presentation and the role of dendritic cells in periodontitis. *Periodontology 2000*, 35, 135–157.
- D'Aiuto, F., Parkar, M., Andreou, G., Suvan, J., Brett, P.M., Ready, D. & Tonetti, M.S. (2004). Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *Journal of Dental Research*, 83(2), 156–160.
- Dahlén, G., Charalampakis, G., Abrahamsson, I., Bengtsson, L. & Falsen, E. (2011). Predominant bacterial species in subgingival plaque in dogs. *Journal of Periodontal Research*, 47(3), 354–364.
- Davies, R.M. & Soames, J.V. (1973). The structure of subgingival plaque in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*, 9, 333-341.
- Devker, N.R., Mohitey, J., Vibhute, A., Chouhan, V.S., Chavan, P., Malagi, S. & Joseph, R. (2012). A study to evaluate and compare the efficacy of preprocedural mouthrinsing and high volume evacuator attachment alone and in combination in reducing the amount of viable aerosols produced during ultrasonic scaling procedure. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 13(5), 681–689.
- Di Benedetto, A., Gigante, I., Colucci, S. & Grano, M. (2013). Periodontal disease: linking the primary inflammation to bone loss. *Clinical & Developmental Immunology*, 2013, 1-7.
- Ding, Y., Haapasalo, M., Kerosuo, E., Lounatmaa, K., Kotiranta, A. & Sorsa, T. (1997). Release and activation of human neutrophil matrix metallo- and serine proteinases during phagocytosis of *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola*. *Journal of Clinical Periodontology*, 24, 237–248.
- Dogan, E., Okumus, Z. & Yanmaz, L.E. (2007). Periodontal disease in pet dogs. *Veterinary Research*, 1(1), 17-22.
- Domingues, L.M., Alessi, A.C., Schoken-Iturrinho, R.P. & Dutra, L.S. (1999). Microbiota saprófita associada à doença periodontal em cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 51(4), 1-6.
- Drisko, C. H. (2001). Nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 25(1), 77–88.
- Egland, P.G., Palmer, R.J. & Kolenbrander, P.E. (2004). Interspecies communication in *Streptococcus gordonii*-*Veillonella atypica* biofilms: signaling in flow conditions requires juxtaposition. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(48), 16917–16922.
- Elliott, D.R., Wilson, M., Buckley, C.M.F. & Spratt, D.A. (2005). Cultivable oral microbiota of domestic dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5470–5476.
- El-solh, A.A., Pietrantonio, C. & Bhat, A. (2013). Colonization of dental plaques. A reservoir of respiratory pathogens for hospital-acquired pneumonia in institutionalized elders. *CHEST Journal*, 126(5), 1575–1582.
- Ericsson, I., Berglundh, T., Marinello, C., Lijenberg, B. & Lindhe, J. (1991). Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clinical Oral Implants Research*, 3, 99-103.

- Eurides, D., Gonçalves, G.F., Mazzanti, A. & Buso, A.M. (1996). Placa bacteriana dentária em cães. *Ciência Rural*, 419–422.
- Farrier, S.L., Farrier, J.N. & Gilmour, A.S.M. (2006). Eye safety in operative dentistry - a study in general dental practice. *British Dental Journal*, 200(4), 218–223.
- Fernandes, N.A., Borges, A.P.B., Reis, E.C.C., Sepúlveda, R.V. & Pontes, K.C.D.S. (2012). Prevalence of periodontal disease in dogs and owners' level of awareness - a prospective clinical trial. *Revista Ceres*, 59(4), 446–451.
- Fernandez, C., Wilhelmi, I., Andradas, E., Gaspar, C., Gomez, J., Romero, J., ... Fereres, J. (1996). Nosocomial outbreak of *Burkholderia pickettii* infection due to a manufactured intravenous product used in three Hospitals. *Clinical Infectious Diseases*, 22, 1092–1095.
- Fonseca, S.A., Galera, P.D., Brito, D.L., Perecmanis, S., Silva, A.S., Cardoso, L.B., Marçola, T. & Pimentel, C.M. (2011). Análise microbiológica da placa bacteriana da doença periodontal em cães e o efeito da antibioticoterapia sobre ela. *Ciência Rural*, 41(8), 1424–1429.
- Forsblom, B., Love, D., Sarkiala-Kessel, E. & Jousimies-Somer, H. (1997). Characterisation of anaerobic, gram-negative, nonpigmented, saccharolytic rods from subgingival sites in dogs. *Clinical Infectious Disease*, 25(2), 100-106.
- Gad, T. (1968). Periodontal disease in dogs. *Journal of Periodontal Research*, 3(4), 268–272.
- Gaengler, P. & Hoffmann, T. (1996a). Clinical and pathomorphological investigation of spontaneously occurring periodontal disease in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 37, 471–479.
- Gaengler, P. & Hoffmann, T. (1996b). Epidemiology of periodontal disease in poodles. *Journal of Small Animal Practice*, 37, 309–316.
- Gaetti-Jardim Jr, E., Gaetti-Jardim, E.C., Lins, S., Oliveira, S. & Semenoff, A. (2007). Susceptibilidade de bactérias anaeróbias isoladas de infecções periimplantares e periodontais ao metronidazol, lincosamidas, macrolídeos e tetraciclina. *Revista Odontológica*, 22(56), 131-137.
- Gagnot, G., Poblete, M. & Michel, J-F. (2004). Comparative study of manual and ultrasonic instrumentation of cementum surfaces: influence of lateral pressure. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 24(2), 137-145.
- García, A., Pérez, M., Sosa, M., López, A., Guzmeli, A., Cantero, L., Hernández, I., Aleaga, Y., Berbes, A., Contreras, M. & Díaz, F. (2012). Flora bucal en perros de la raza Beagle con enfermedad periodontal inducida. *Revista Electrónica de Veterinária*, 13(1), 1–10.
- Gawor, J.P., Reiter, A.M., Jodkowska, K., Kurski, G., Wojtacki, M.P. & Kurek, A. (2006). Influence of diet on oral health in cats and dogs. *The Journal of Nutrition*, 136, 2021-2023.
- Genco, R.J. & Borgnakke, W.S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology* 2000, 62(1), 59–94.

- Gengler, W.R., Kunkle, B.N. & Larsen, D. (2005). Evaluation of a barrier sealant in dogs. *Journal of Veterinary Dentistry*, 22(3), 157-159.
- Gioso, M.A. (2011a). Periodontal disease: cause, progression and local impact. *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress*, Jeju, Korea, 14-17 October 2011. Acedido em 21 Out., 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2011/79.pdf>
- Gioso, M.A. (2011b). Periodontal management: charting, scaling and plaque control. *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA*, Jeju, Korea, 14-17 October, 2011. Acedido em Set. 12, 2013, em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2011/81.pdf>
- Gioso, M.A. (2011c). Periodontal management : treatment of involved periodontal disease. *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA*, Jeju, Korea, 14-17 October, 2011. Acedido em Set. 12, 2013, em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2011/81.pdf>
- Glickman, L.T., Glickman, N.W., Moore, G.E., Goldstein, G.S. & Lewis, H.B. (2009). Evaluation of the risk of endocarditis and other cardiovascular events on the basis of the severity of periodontal disease in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 234(4), 486–94.
- Glickman, L.T., Glickman, N.W., Moore, G.E., Lund, E.M., Lantz, G.C. & Pressler B.M. (2011). Association between chronic azotemic kidney disease and the severity of periodontal disease in dogs. *Preventive Veterinary Medicine*, 99, 193-200.
- Goldstein, E.J. & Citron, D.M. (1986). Comparative *in vitro* activities of amoxicillin-clavulanic acid and imipenem against anaerobic bacteria isolated from community hospitals. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 29(1), 158-160.
- Goldstein, E.J. & Citron, D.M. (1998). Comparative activities of cefuroxime, amoxicillin-clavulanic acid, ciprofloxacin, enoxacin, and ofloxacin against aerobic and anaerobic bacteria isolated from bite wounds. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 32(8), 1143-1148.
- Gorrel, C. & Nind, F. (Eds.). (2008). *Série clínica veterinária na prática. Odontologia em pequenos animais*. (1ª edição). Rio de Janeiro: Elsevier.
- Gorrel, C. (1998a). Periodontal disease and diet in domestic pets. *The Journal of Nutrition*, 128(2), 2712–2714.
- Gorrel, C. (1998b). Nutrition and disease periodontal disease and diet in domestic pets. *The Journal of Nutrition* 128, 2712–2714.
- Gorrel, C. (2008a). Diagnostics and treatment of periodontal disease in dogs and cats. *Proceedings of the 33rd World Small Animal Veterinary Congress*, Dublin, Ireland, 20-24 August 2008. Acedido em Out. 8, 2013 em: <http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2008/toc.asp>.
- Graves, D.T. (1999). The potential role of chemokines and inflammatory cytokines in periodontal disease progression. *Clinical Infectious Diseases*, 28, 482–490.
- Grenier, D. (1995). Quantitative analysis of bacterial aerosols in two different dental clinic environments. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(8), 3165-3168.

- Guerreiro, C.E., Appelboom, H. & Lowe, R.C. (2013). Successful medical treatment for globe penetration following tooth extraction in a dog. *Veterinary Ophthalmology*
- Hale, F.A. (2003). Home Care for the Dental Patient. Acedido em Set. 14, 2013, em: [http://www.hillscampus.it/files/simposi/17\\_OralCare/07%20confPro\\_oral\\_HomeCareForTheDentalPatient\\_en.pdf](http://www.hillscampus.it/files/simposi/17_OralCare/07%20confPro_oral_HomeCareForTheDentalPatient_en.pdf)
- Hamp, S., Olsson, S., Farso-Madsen, K., Viklands, P. & Fornell, J. (1984). A macroscopic and radiologic investigation of dental diseases of the dog. *Veterinary Radiology*, 25(2), 86–92.
- Hamp, S-E., Lindhe, J. & Loe, H. (1973). Long term effect of chlorhexidine on developing gingivitis in the Beagle dog. *Journal Periodontology*, 8, 63–70.
- Handal, T., Olsen, I., Walker, C.B. & Caugant, D.A. (2005). Detection and characterization of b-lactamase genes in subgingival bacteria from patients with refractory periodontitis, 242, 319–324.
- Hannan, S., Ready, D., Jasni, A.S., Rogers, M., Pratten, J. & Roberts, A.P. (2010). Transfer of antibiotic resistance by transformation with eDNA within oral biofilms. *FEMS Immunology and Medical Microbiology*, 59(3), 345–349.
- Hannig, M. (1999). Ultrastructural investigation of pellicle morphogenesis at two different intraoral sites during a 24-h period. *Clinical Oral Investigations*, 3, 88–95.
- Hara, A.T., Ando, M., Gonzalez-Cabezas, C., Cury, J.A., Serra, M.C. & Zero, D.T. (2006). Protective effect of the dental pellicle against erosive challenges in situ. *Journal of Dental Research*, 85(7), 612–616.
- Hardham, J., Dreier, K., Wong, J., Sfintescu, C. & Evans, R.T. (2005). Pigmented - anaerobic bacteria associated with canine periodontitis. *Veterinary Microbiology*, 106, 119–128.
- Hardham, J., Reed, M., Wong, J., King, K., Laurinat, B., Sfintescu, C. & Evans, R.T. (2005). Evaluation of a monovalent companion animal periodontal disease vaccine in an experimental mouse periodontitis model. *Vaccine*, 23, 3148-3156.
- Harvey, C.E. Shofer, F.S. & Laster, L. (1996). Correlation of diet, other chewing activities and periodontal disease in north american client-owned dogs. *Journal of Veterinary Dentistry*, 13(3), 101-105.
- Harwood, V.J., Delahoya, N.C., Ulrich, R.M., Kramer, M.F., Whitlock, J.E., Garey, J.R. & Lim, D.V. (2004). Molecular confirmation of *Enterococcus faecalis* and *E. faecium* from clinical, faecal and environmental sources. *Letters in Applied Microbiology*, 38, 476–482.
- Hernandez, M. (2007a). Dental cleaning and home care products. *Proceedings of the World Small Animal Veterinary Association*. Sydney, Australia. Acedido em Out. 8, 2013, em: [http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2007/pdf/50\\_20070331154419\\_abs.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2007/pdf/50_20070331154419_abs.pdf)
- Hernandez, M. (2007b). Identification of oral pathology and dental charting. *Proceedings of the 32nd Annual WSAVA Congress*, Sydney, Australia, 19-23 August. Acedido em Out. 8, 2013, em: [http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/50\\_20070331154313\\_abs.pdf](http://www.ivis.org/proceedings/Wsava/2007/pdf/50_20070331154313_abs.pdf)



- Hinds, W.C. (Ed.) (1999). Introduction. *Aerosol Technology: Properties, Behavior, and Measurement of Airborne Particles* (2nd ed.). (pp. 1- 14). United States of America: John Wiley & Sons, Inc..
- Hoekstra, K. & Paulton, R.J.L. (2002). Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. intermedius* in dogs. *Journal of Applied Microbiology*, 93, 406–413.
- Holmlund, A., Hånström, L. & Lerner, U.H. (2004). Bone resorbing activity and cytokine levels in gingival crevicular fluid before and after treatment of periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 475–482.
- Holmstrom, S.E., Bellows, J., Juriga, S., Knutson, K., Niemiec, B. & Perrone, J. (2013). 2013 AAHA dental care guidelines for dogs and cats. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 49(2), 75–82.
- Howell, T.H. Jeffcoat, M.K., Goldhaber, P., Reddy, M.S., Kaplan, M.L., Johson, H.G., Hall, C.M. & Williams, R.C. (1991). Inhibition of alveolar bone loss in beagles with the NSAID naproxen. *Journal of Periodontal Research*, 26, 498-501.
- Hull, P.S. & Davies, R.M. (1972). The effect of a chlorhexidine gel on tooth deposits in Beagle dogs. *The Journal of Small Animal Practice*, 13(4), 207–212.
- Ilgazs, A. & Birgele, E. (2003). Correlation between the condition of the mouth cavity and food in different breed of dogs. *Veterinarija ir Zootechnika*, 21(43), 13–16.
- Ingham, K.E. & Gorrel, C., (1999). Assessing oral health and hygiene in dogs. *Waltham Focus*, 9(4), 32–33.
- Ioannou, I., Dimitriadis, N., Papadimimtriou, K., Sakellari, D., Vouros, I. & Konstantinidis, A. (2009). Hand instrumentation ultrasonic debridement in the versus treatment of chronic periodontitis: a randomized clinical and microbiological trial. *Journal of Clinical Periodontology*, 36, 132-141.
- Jenkinson, H.F. & Lamont, R.J. (1997). Streptococcal adhesion and colonization. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 8(2), 175–200.
- Johnston, N. (2002). Veterinary Dentistry- periodontal disease. Acedido em Set. 20, 2013 em: <http://www.vet.ed.ac.uk/clive/cal/Dentistry/website/index.htm>
- Júnior, G.M., Paulino, A., Sobrinho, R., Henrique, B., Bambirra, S., Silva, F.H. & Spangler, E. (2011). Synergistic growth effect among bacteria recovered from root canal infections. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 973–979.
- Kahnberg, K-E., Lindhe, J. & Helldén, L. (1976). Initial gingivitis induced by topical application of plaque extract. *Journal of Periodontal Research*, 11, 218-225.
- Kaplan, J. B., Meyenhofer, M. F., & Fine, D. H. (2003). Biofilm growth and detachment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Journal of Bacteriology*, 185(4), 1399–1404.
- Kedjarune, U., Kukiattrakoon, B., Yapong, B., Chowanadisai, S. & Leggat, P. (2000). Bacterial aerosols in the dental clinic: effect of time, position and type of treatment. *International Dental Journal*, 50(2), 103–7.

- Kim, S.E., Kim, S., Jeong, M., Lee, Y., Ahn, J., Park, Y., Ahn, J., Lee, E., Ryu, D-Y. & Seo, K. (2013). Experimental determination of a subantimicrobial dosage of doxycycline hyclate for treatment of periodontitis in Beagles. *American Journal of Veterinary Research*, 74, 130-135.
- Kinane, D. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology* 2000, 25, 8–20.
- Klein, T. (2000). Predisposing factors and gross examination findings in periodontal disease. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 15(4), 189-196.
- Kohn, W.G., Collins, A.S., Cleveland, J.L., Harte, J.A., Eklund, K.J., Malvitz, D.M. (2004). Guidelines for infection control in dental health-care settings- 2003. *American Dental Association*, 135, 33-47.
- Kortegaard, H.E., Eriksen, T., & Baelum, V. (2008). Periodontal disease in research beagle dogs - an epidemiological study. *Journal of Small Animal Practice*, 49, 610–616.
- Kumar, A., Pandey, M., Singh, A., Mittra, P. & Kumar, P. (2013). Prevalence and severity of periodontal diseases in type 2 Diabetes Mellitus of Bareilly region India. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 2(1), 77-83.
- Kyllar, M. & Witter, K. (2005). Prevalence of dental disorders in pet dogs. *Veterinary Medicine*, 50 (11), 496–505.
- Lage, A., Lausen, N., Tracy, R. & Allred, E. (1990). Effects of chewing rawhide and cereal biscuit on removal of dental calculus in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 197 (2), 213–219.
- Lea, S.C., Landini, G. & Walmsley, A.D.(2004), Thermal imaging of ultrasonic scaler tips during tooth instrumentation. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 370-375.
- Ledbetter, E. C. & Scarlett, J. M. (2008). Isolation of obligate anaerobic bacteria from ulcerative keratitis in domestic animals. *Veterinary Ophthalmology*, 11(2), 114–122.
- Ledezma-Rasillo, G., Flores-Reyes, H., Gonzalez-Amaro, A., Garrocho-Rangel, A., Ruiz-Rodriguez, M., Pozos-Guillen, A. (2010). Identification of cultivable microorganisms from primary teeth with necrotic pulps. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 34(4), 329-333.
- Lee, S.F., Li, Y.H. & Bowden, G.H. (1996). Detachment of *Streptococcus mutans* biofilm cells by an endogenous enzymatic activity. *Infection and Immunity*, 64(3), 1035–1038.
- Legendre, L. (2006). Advanced periodontal therapy. *Proceedings of the Wsava 2006 Congress*, Prague, Czech Republic, 11 October, 2006. Acedido em Out. 8, 2013, em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture7/Legendre2.pdf?LA=1>.
- Legeros, R.Z. & Shannon, I.L. (1979). The crystalline components of dental calculi: human vs. dog. *Journal of Dental Research*, 58(12), 2371–2377.
- Leggat, P.A. & Kedjarune, U. (2001). Bacterial aerosols in the dental clinic: a review. *International Dental Journal*, 51(1), 39–44.
- Leggat, P.A., Kedjarune, U. & Smith, D.R. (2007). Occupational health problems in modern dentistry: a review. *Industrial Health*, 45(5), 611–621.

- Lendenmann, U., Grogan, J. & Oppenheim, F.G. (2000). Saliva and dental pellicle - a review. *Advances in Dental Research*, 14(1), 22 - 28.
- Leonard, F.C. & Markey, B.K. (2008). Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: a review. *Veterinary Journal*, 175, 27–36.
- Lindhe, J. & Svanberg, G. (1974). Influence of trauma from occlusion on progression of experimental periodontitis in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology*, 1, 3-14.
- Lindhe, J. (2008). Clinical periodontology and implant dentistry (5<sup>th</sup> ed.). Copenhagen: Blackwell Munksgaard.
- Lindhe, J., Hamp, S-E. & Loe, H. (1973). Experimental periodontitis in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*, 8, 1–10.
- Lindhe, J., Hamp, S-E. & Loe, H. (1975). Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. *Journal of Periodontal Research*, 10, 243–255.
- Listgarten, M.A. (1987). Nature of periodontal diseases: pathogenic mechanisms. *Journal of Periodontal Research*, 22, 172–178.
- Listgarten, M.A. (1988). The role of dental plaque in gingivitis and periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 15, 485–487.
- Listgarten, M.A. (1994). The structure of dental plaque. *Periodontology 2000*, 5, 52–65.
- Lobprise, H.B. (2007). Periodontal disease - what you need to know. *Proceeding of the NAVC North American Veterinary Conference*, Orlando, Florida, 13-27 January. Acedido em Set. 11, 2003 em: <http://www.ivis.org/proceedings/navc/2007/SAE/093.asp?LA=1>
- Loe, H. (1993). Periodontal disease the sixth complication of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 16(1), 329-334.
- Loeffler, A., Boag, A.K., Sung, J., Lindsay, J.A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A. & Lloyd, D.H. (2005). Prevalence of methicillin - resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56, 692–697.
- Lopes, F.M., Gioso, M.A., Ferro, D.G., Lepn-Roman, M.A., Venturini, M.A.F.A. & Correa, H.L. (2005). Oral fractures in dogs of Brazil - a retrospective study. *Journal of Veterinary Dentistry*, 22(2), 86-90.
- Lund, E.M., Armstrong, P.J., Kirk, C.A., Kolar, L.M. & Klausner, J.S. (1999). Health status and population characteristics of dogs and cats examined at private veterinary practices in the United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 214(9), 1336–1341.
- Maestre, J.R. & Centelles, M.L. (2007). Antimicrobial prophylaxis in oral surgery and dental procedures. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 12(1), 44–52.
- Maestre, V., Maestre, M. & Santana, S. (2008). Bacteriemia secundaria a procedimientos odontológicos periodontales. *Revista Espanhola de Quimioterapia*, 21(3), 153–156.
- Maghlouth, A., Yousef, Y. & Bagieh, N. (2004). Qualitative and quantitative analysis of bacterial aerosols. *Journal of Contemporary Dental Practice*, 5(4), 91-100.

- Manarte-Monteiro, P., Carvalho, A., Pina, C., Oliveira, H. & Manso, M.C. (2013). Air quality assessment during dental practice: Aerosols bacterial counts in an university clinic. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 54(1), 2–7.
- Marsh, P.D. (2004). Dental plaque as a microbial biofilm. *Caries research*, 38(3), 204-211.
- Marsh, P.D & Bradshaw, D.J. (1995). Dental plaque as a biofilm. *Journal of Industrial Microbiology*, 15(3), 169–175.
- Marsh, P.D. (2006). Dental plaque as a biofilm and a microbial community - implications for health and disease. *BMC Oral Health*, 6(1), 1-7.
- Marsh, P.D., Moter, A. & Devine, D.A. (2011). Dental plaque biofilms: communities, conflict and control. *Periodontology 2000*, 55(1), 16–35.
- Matsuo, T. & Ichimura, K. (2004). A case of *vibrio vulnificus* keratitis. *Japanese Journal of Ophthalmology*, 52(2), 130–131.
- Micik, R.E., Miller, R.L. & Leong, A.C. (1971). Studies on dental aerobiology: III. efficacy of surgical masks in protecting dental personnel from airborne bacterial particles. *Journal of Dental Research*, 50(3), 626–630.
- Micik, R.E., Miller, R.L., Mazzarella, M.A. & Ryge, G. (1969). Studies on dental aerobiology. I. Bacterial aerosols generated during dental procedures. *Journal of Dental Research*, 48, 49–56.
- Miller, R.L., Micik, R.E., Abel, C. & Ryge, G. (1971). Studies on Dental Aerobiology: II. Microbial splatter discharged from the oral cavity of dental patients. *Journal of Dental Research*, 50(3), 621–625.
- Mojon, P., Budtz-Jørgensen, E., Michel, J.P. & Limeback, H. (1997). Oral health and history of respiratory tract infection in frail institutionalised elders. *Gerodontology*, 14(1), 9–16.
- Moolya, N.N., Thakur, S., Ravindra, S., Setty, S.B., Kulkarni, R. & Hallikeri, K. (2010). Viability of bacteria in dental calculus - a microbiological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 14(4), 222–226.
- Moreira, B.M., Leobons, M.B.G.P., Pellegrino, F.L.P.C., Santos, M., Teixeira, L.M., Marques, E.D.A. & Silva, C.L. (2005). *Ralstonia pickettii* and *Burkholderia cepacia* complex bloodstream infections related to infusion of contaminated water for injection. *Journal of Hospital Infection*, 60, 51–55.
- Morinha, F., Albuquerque, C., Requicha, J., Dias, I., Leitão, J., Gut, I., Guedes-Pinto, H., Viegas, C. & Bastos, E. (2012). Analysis of new lactotransferrin gene variants in a case-control study related to periodontal disease in dog. *Molecular Biology Reports*, 39(4), 4673-4681.
- Morris, J.F. & Sewell, D.L. (1994). Necrotizing pneumonia caused by mixed infection with *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Actinomyces israelii*: case report and review. *Clinical Infectious Diseases*, 18(3), 450–452.
- Mouro, S., Vilela, C.L. & Niza, M.M.R.E. (2010). Clinical and bacteriological assessment of dog-to-dog bite wounds. *Veterinary Microbiology*, 144(1-2), 127–132.
- Myers, J.P. (2006). Skin and soft tissue infections and envenomations acquired at the beach. *Current Infectious Disease Reports*, 8(5), 394–398.

- Nakazawa, F., Miyakawa, H. Fujita, M. & Kamaguchi, A. (2011). Significance of Asaccharolytic Eubacterium and Closely Related Bacterial Species in the Human Oral Cavity. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*, 3(1), 17-21.
- Nejatidanesh, F., Khosravi, Z., Goroohi, H., Badrian, H. & Savabi, O. (2013). Risk of contamination of different areas of dentist's face during dental practices. *International Journal of Preventive Medicine*, 4(5), 611-615.
- Niemiec, B.A. (2008a). Topical review: periodontal disease. *Topics in Companion Animal Medicine*, 23(2), 72-80.
- Niemiec, B.A. (2008b). Topical review: periodontal therapy *Topics in Companion Animal Medicine*, 23(2), 81-90.
- Nieves, M.A., Hartwig, P., Kinyon, J.M. & Riedesel, D.H. (1997). Bacterial isolates from plaque and from blood during and after routine dental procedures in dogs. *Veterinary Surgery*, 26(1), 26–32.
- Nishiyama, S., Senhorinho, G., Gioso, M.A. & Avila-Campos, M.J. (2007). Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens of dogs. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 23–28.
- Nonnenmacher, C., Mutters, R. & Jacoby, L.F. (2001). Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. *Clinical Microbiology Injections*, 7, 213–217.
- O'uchi, N., Nishikawa, H., Yoshino, T., Kanoh, H., Motoie, H., Nishimori, E., Shimaoka, T., Abe, T., Shikama, H., Fujikura, T., Matsue, M. & Matsue, I. (1998). Inhibitory effects of YM175, a biphosphonate, on the progression of experimental periodontitis in beagle dogs. *Journal of Periodontal Research*, 33, 196-204.
- Oberg, T. & Brosseau, L. M. (2008). Surgical mask filter and fit performance. *American Journal of Infection Control*, 36(4), 276–82.
- Oda, S., Nitte, H., Setoguchi, T., Izumi, Y. & Ishikawa, I. (2004). Current concepts and advances in manual and power-driven instrumentation. *Periodontology 2000*, 36, 45-58.
- Paiva, A.C., Saad, F.M.O.B., Leite, C.A.L., Duarte, A., Pereira, D.A.R. & Jardim, C.A.C. (2007). Eficácia dos coadjuvantes de higiene bucal utilizados na alimentação de cães. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 59(5), 1177-1183.
- Palmer Jr., R.J., Kazmerzak, K., Hansen, M.C. & Kolenbrander, P.E. (2001). Mutualism versus independence: strategies of mixed-species oral biofilms *in vitro* using saliva as the sole nutrient source. *Infection and Immunity*, 69(9), 5794-5804.
- Pankhurst, C.L. & Coulter, W.A. (2007). Do contaminated dental unit waterlines pose a risk of infection?. *Journal of Dentistry*, 35, 712–720.
- Paquette, D.W., Waters, G.S., Stefanidou, V.L., Lawrence, H.P., Friden, P.M., Connor, S.M., Sperati, J.D., Oppenheim, F.G., Hutchens, L.H. & Williams, R.C. (1997). Inhibition of experimental gingivitis in beagle dogs with topical salivary histatins. *Journal of Clinical Periodontology*, 4, 216-222.
- Pasquarella, C., Pitzurra, O. & Savino, A. (2000). The index of microbial air contamination. *The Journal of Hospital Infection*, 46(4), 241–56.

- Patil, S., Kullol, A., Savita, A.M. & Thanawala, D. (2012). Comparative evaluation of root surface changes by three modes of instrumentation – a scanning electron microscopic study. *World Journal of Science and Technology*, 2(11), 53-57.
- Pavlica, Z. (2006). Periodontal Medicine. *Proceedings of the Wsava 2006 Congress*, Prague, Czech Republic, 11 October, 2006. Acedido em Out. 20, 2013, em: <http://www.ivis.org/proceedings/wsava/2006/lecture7/Pavlica2.pdf?LA=1>
- Pavlica, Z., Petelin, M., Juntas, P., Erzven, D., Crossley, D. & Skaleric, U. (2008). Periodontal disease burden and pathological changes in organs of dogs. *Journal of Veterinary Dentistry*, 25(2), 97-105.
- Payne, W., Page, R.C., Ogilvie, A.L. & Hall, W.B. (1975). Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. *Journal of Periodontal Research*, 10(2), 51–64.
- Pedersen, K., Pedersen, K., Jensen, H., Finster, K., Jensen, V.F. & Heuer, O.E. (2007). Occurrence of antimicrobial resistance in bacteria from diagnostic samples from dogs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 775–781.
- Pfizer Inc: Data on file, Study No. 3860R - 60 - 03 - 198.
- Plumb, D.C. (2008). *Plumb's veterinary drug handbook*. (6<sup>th</sup> ed.) Iowa: Blackwell Publishing Professional.
- Poulet, P., Duffaut, D., Barthet, P. & Brumpt, I. (2005). Concentrations and *in vivo* antibacterial activity of spiramycin and metronidazole in patients with periodontitis treated with high-dose metronidazole and the spiramycin/ metronidazole combination. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 55(3), 347–351.
- Preshaw, M. (2000). Host response modulation in periodontics. *Periodontology* 2000, 48, 92-110.
- Preus, H.R. & Olsen, I. (1988). Possible transmittance of *A. actinomycetemcomitans* from a dog to a child with rapidly destructive periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 23(1), 68–71.
- Prospero, E., Savini, S. & Anmino, I. (2003). Microbial aerosol contamination of dental healthcare workers faces and other surfaces in dental practice. *Infection Control And Hospital Epidemiology*, 24(2), 139–141.
- Purohit, B., Priya, H., Acharya, S., Bhat, M. & Ballal, M. (2009). Efficacy of pre-procedural rinsing in reducing aerosol contamination during dental procedures. *Journal of Infection Prevention*, 10(6), 190–192.
- Ramberg, P., Sekino, S., Uzel, N.G., Socransky, S. & Lindhe, J. (2003). Bacterial colonization during de novo plaque formation. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 990–995.
- Rams, T.E., Degener, J.E. & van Winkelhoff, A.J. (2013). Prevalence of b-lactamase-producing bacteria in human periodontitis. *Journal of periodontal research*, 48(4), 493–499.
- Ramsey, I. (Ed.) (2011). *BSAVA small animal formulary*. (7<sup>th</sup> ed.). Gloucester: British Small Animal Veterinary Association.

- Rautemaa, R., Nordberg, A., Wuolijoki-Saaristo, K. & Meurman, J.H. (2006). Bacterial aerosols in dental practice - a potential hospital infection problem? *The Journal of Hospital Infection*, 64, 76–81.
- Reis, E., Borges, A. & Carlos, R. (2011). Regeneração periodontal em cães. *Ciência Rural*, 41(12), 2128–2136.
- Renvert, S., Wikstrom, M., Mugerab, M. & Claffey, N. (1996). Histological and microbiological aspects of ligature-induced periodontitis in beagle dogs. *Journal of Clinical Periodontology*, 23, 310–319.
- Riggio, M.P., Lennon, A., Taylor, D.J. & Bennett, D. (2011). Molecular identification of bacteria associated with canine periodontal disease. *Veterinary Microbiology*, 150, 394–400.
- Ritz, H.L. (1967). Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Archives of Oral Biology*, 12, 1561–1568.
- Rizvi, M., Waris, M., Sultan, A., Khan, F., Shukla, I. & Malik, A. (2013). Emergence of coryneform bacteria as pathogens in nosocomial surgical site infections in a tertiary care hospital of North India. *Journal of Infection And Public Health*, 6(4), 283–288.
- Roberts, A.P., Cheah, G., Ready, D., Wilson, M., Mullany, P. & Pratten, J. (2001). Transfer of Tn 916-like elements in microcosm dental plaques. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(10), 2943-2946.
- Roche, Y. & Yoshimori, R.N. (1997). *In-vitro* activity of spiramycin and metronidazole alone or in combination against clinical isolates from odontogenic abscesses. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 40, 353–357.
- Rosan, B. & Lamont, R.J. (2000). Dental plaque formation. *Microbes and Infection*, 2, 1599–1607.
- Rosenquist, K., Wennerberg, J., Schildt, E-B., Bladström, A., Hansson, G.B. & Anderson, G. (2005). Oral status, oral infections and some lifestyle factors as risk factors for oral and oropharyngeal squamous cell carcinoma. A population-based case-control study in southern Sweden. *Acta Oto-Laryngologica*, 125, 1327–1336.
- Russell, S.L., Boylan, R.J., Kaslick, R.S., Scannapieco, F.A. & Katz, R.V. (1999). Respiratory pathogen colonization of the dental plaque of institutionalized elders. *Special Care in Dentistry*, 19(3), 128–34.
- Ryan, M.P., Pembroke, J.T. & Adley, C.C. (2006). *Ralstonia pickettii*: a persistent Gram-negative nosocomial infectious organism. *Journal of Hospital Infection*, 62, 278–284.
- Salvi, G., Lang, N. (2005). Host response modulation in the management of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology*, 32(6), 108-129.
- Samaranayake, L. (2005). Infection control in dentistry: a review of principles and practice. *Khon Kaen University Dental Journal*, 8(2), 95–113.
- Santos, S. & Jorge, A. (2000). Sensibilidade *in vitro* de *enterobacteriaceae* e *pseudomonadaceae* isoladas da cavidade bucal humana à espiramicina, metronidazol e tetraciclina. *Revista Biociências*, 6(1), 7–10.

- Sarkiala, E., Asikainen, S., Wolft, J., Kanervos, A., Happonen, I. & Jousimies-Somer, H. (1993). Clinical, radiological and bacteriological findings in canine periodontitis. *Journal of Small Animal Practice*, 34, 265–270.
- Scannapieco, F.A. (1994). Saliva-bacterium interactions in oral microbial ecology. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 5(3&4), 203-248.
- Schroeder, H. E., Graf-de-Beer, M. & Attström, R. (1975). Initial gingivitis in dogs. *Journal of Periodontal Research*, 10, 128–142.
- Siqueira, W.L., Custodio, W. & McDonald, E.E. (2012). New insights into the composition and functions of the acquired enamel pellicle. *Journal of Dental Research*, 91(12), 1110–1118.
- Slots, J. & Genco, R.J. (1979). Direct hemagglutination technique for differentiating *Bacteroides asaccharolyticus* oral strains from nonoral strains. *Journal of Clinical Microbiology*, 10(3), 371–373.
- Slots, J. (1979). Subgingival microflora and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*, 6, 351–382.
- Slots, J. (2004). Systemic antibiotics in periodontics. *Journal of Periodontology*, 75, 1553-1565.
- Sorensen, W.P., Løe, H. & Ramfjord, S.P. (1980). Periodontal disease in the beagle dog. A cross sectional clinical study. *Journal of Periodontal Research*, 15(4), 380–389.
- Souto, R. & Colombo, A. (2008). Prevalence of *Enterococcus faecalis* in subgingival biofilm and saliva of subjects with chronic periodontal infection. *Archives of Oral Biology*, 53, 155–160.
- Sowkup, J.W. (2010). Periodontitis. In S.J. Ettinger & E.C. Feldman (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (7th ed.). (pp. 174-185). Missouri: Saunders Elsevier.
- Stead, A.C. (1984). Osteomyelitis in the dog and cat. *Journal of Small Animal Practice*, 25, 1-13.
- Stookey, G.K. (2009). Soft rawhide reduces calculus formation in dogs. *Journal of Veterinary Dentistry*, 26(2), 82–86.
- Strom, M.S. & Paranjpye, R.N. (2000). Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes and Infection*, 2, 177–188.
- Sumi, Y., Miura, H., Sunakawa, M., Michiwaki, Y. & Sakagami, N. (2002). Colonization of denture plaque by respiratory pathogens in dependent elderly. *Gerodontology*, 19(1), 25–29.
- Sun, J., Sundsfjord, A. & Song, X. (2012). *Enterococcus faecalis* from patients with chronic periodontitis: virulence and antimicrobial resistance traits and determinants. *European Journal of Clinical Infectious Disease*, 31, 267–272.
- Suresh, S., Manimegalai, M., Sudhakar, U., & Sophia. (2011). Comparison of efficacy of preprocedural rinsing with chlorhexidine and essential oil mouthwash in reducing viable bacteria in dental aerosols- a microbiological study. *International Journal of Contemporary Dentistry*, 2(6), 1–6.



- Svanberg, G.K., Syed, S.A. & Scott, B.W. (1982). Differences between gingivitis and periodontitis associated microbial flora in the beagle dog. *Journal of Periodontal Research*, 17, 1-11.
- Syed, S., Svanberg, M. & Svanberg, G. (1980). The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with gingivitis. *Journal of Periodontal Research*, 15, 123-136.
- Syed, S., Svanberg, M. & Svanberg, G. (1981). The predominant cultivable dental plaque flora of beagle dogs with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 8, 45-56.
- Szyma, J. & Sitkowska, J. (2012). Bacterial hazards in a dental office: an update review. *African Journal of Microbiology Research*, 6(8), 1642-1650.
- Szymańska, J. & Sitkowska, J. (2013). Bacterial contamination of dental unit waterlines. *Environmental Monitoring and Assessment*, 185, 3603-3611.
- Szymańska, J. (2005). Microbiological risk factors in dentistry. Current status of knowledge. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 12, 157-163.
- Szymańska, J. (2007). Dental bioaerosol as an occupational hazard in a dentist's workplace. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 203-207.
- Tabak, L.A., Levine, M.J., Mandel, I.D. & Ellison, S.A. (1982). Role of salivary mucins in the protection of the oral cavity. *Journal of Oral Pathology*, 11(1), 1-17.
- Takada, K. & Hirasawa, M. (2000). Expression of trypsin-like activity by the genera *Corynebacterium* and *Actinomyces* in canine periodontitis. *Journal of Medical Microbiology*, 49, 621-625.
- Tasker, S., Knottenbelt, C., Munro, E., Stonehewer, J., Simpson, J. & Mackin, A. (1999). Aetiology and diagnosis of persistent nasal disease in the dog: a retrospective study of 42 cases. *The Journal of Small Animal Practice*, 40, 473-478.
- Tepe, J.H., Leonard, G.J., Singer, R.E., Gray, J.A., Gibberman, B.P. & Mulvihill, J.E. (1983). The long - term effect of chlorhexidine on plaque, gingivitis, sulcus depth, gingival recession, and loss of attachment in beagle dogs. *Journal of Periodontal Research*, 18, 452-458.
- Terpenning, M.S. & Taylor, G.W. (2001). Aspiration pneumonia: dental and oral risk factors in an older veteran population. *Journal of American Geriatrics Society*, 49, 557-563.
- Timmerman, M.F., Menso, L., Steinfors, J., van Winkelhoff, A.J. & van der Weijden, G.A. (2004). Atmospheric contamination during ultrasonic scaling. *Journal of Clinical Periodontology*, 31, 458-462.
- Trenter, S.C. & Walmsley, A.D. (2003). Ultrasonic dental scaler: associated hazards. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(2), 95-101.
- Tromp, J.A.H., Jansen, J. & Pilot, T. (1986). Gingival health and frequency of tooth brushing in the beagle dog model. *Journal of Clinical Periodontology*, 13, 164-168.
- Ureña, J. L., & Pérez, M. C. (2005). Saliva y Placa bacteriana. In Sala, Emili C., Garcia, Pilar B. (Eds.), *Odontología preventiva y comunitaria- Principios, métodos y aplicaciones* (3ª ed.). (pp. 41-62). México: Elsevier Masson.

- Van Steenbergern, T.J.M., van der Mispel, L.M.S. & de Graaff, J. (1986). Effects of ammonia and volatile fatty acids produced by oral bacteria on tissue culture cells. *Journal of Dental Research*, 65, 909–912.
- Veloo, A.C.M., Seme, K., Raangs, E., Purenga, P., Singadji, Z., Wekema-Mulder, G. & van Winkelhoff, A.J. (2012). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 40, 450-454.
- Wang, H-L. & Greenwell, H. (2001). Surgical periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 25, 89–99.
- Wang, J. (2004). Qualitative and Quantitative Analysis of Bacterial Aerosols. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 5(4), 1–8.
- Weese, J.S., DaCosta, T., Button, L., Goth, K., Ethier, M. & Boehnke, K. (2004). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the environment in a veterinary teaching hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 468–470.
- Whittaker, C.J., Klier, C.M. & Kolenbrander, P.E. (1996). Mechanisms of adhesion by oral bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 50, 513–552.
- Williams, G.H., Pollok, N.L., Shay, D.E. & Barr, C.E. (1970). Laminar air purge of microorganisms in dental aerosols: prophylactic procedures with the ultrasonic scaler. *Journal of Dental Research*, 49(6), 1498–1504.
- Wilson, M., Reddi, K. & Henderson, B. (1996). Cytokine-inducing components of periodontopathogenic bacteria. *Journal of Periodontal Research*, 31, 393–407.
- Winkelhoff, A.J. Van, Abbas, F., Pavicic, M.J. & Graaff, J.D. (1991). Chronic conjunctivitis caused by oral anaerobes and effectively treated with systemic metronidazole plus amoxicillin. *Journal of Clinical Microbiology*, 29(4), 723–725.
- Wolf, H.F., Rateitschak, E.M., Rateitschak, K.H. (2005). *Color atlas of dental medicine: periodontology*. (3rd ed). Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
- Wood, S. R., Kirkham, J., Marsh, P.D., Shore, R.C., Nattress, B. & Robinson, C. (2000). Architecture of intact natural human plaque biofilms studied by confocal laser scanning microscopy. *Journal of Dental Research*, 79(1), 21–27.
- Wust, J. (1977). Susceptibility of Anaerobic Bacteria to Metronidazole, Ornidazole, and Tinidazole and Routine Susceptibility Testing by Standardized Methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 11(4), 631-637.
- Yamasaki, Y., Nomura, R., Nakano, K., Naka, S., Matsumoto-Nakano, M., Asai, F. & Ooshima, T. (2012). Distribution of periodontopathic bacterial species in dogs and their owners. *Archives of Oral Biology*, 57, 1183–1188.
- Yarwood, J.M., Bartels, D.J., Volper, E.M. & Greenberg, E.P. (2004). Quorum Sensing in *Staphylococcus aureus* Biofilms. *Journal of Bacteriology*, 186(6), 1838-1850.
- Yoshie, H., Kobayashi, T., Tai, H. & Galicia, J.C. (2007). The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontology 2000*, 43, 102–132.
- Zach, L. & Cohen, G. (1965). Pulp response to externally applied heat. *O.S., O.M. & O.P.*, 19(4), 515 - 530.

- Zambori, C., Cumpanasoiu, C., Bianca, M. & Tirziu, E. (2013). Biofilms in oral cavity of dogs and implication in zoonotic infections. *Animal Science and Biotechnologies*, 46(1), 155–158.
- Zee, K.Y., Samaranayake, L.P. & Attström, R. (1996). Predominant cultivable supragingival plaque in chinese “rapid” and “slow” plaque formers. *Journal of Clinical Periodontology*, 23(11), 1025–1031.
- Zerbini, L. & Ossiprandi, M. (2007). Prevalence of *Clostridium* spp. in diarrhoeic and healthy dogs. *Ann. Fac. Medic. Vet. di Parma*, 27, 143–156.

Anexo 1- Ficha clínica dentária. (Original).

89

---

**5. Antibioterapia**

Sim ☐ Não ☐

Antibióticos:

Início de administração:

Período de administração:

---

**6. Destartarização**

Data:

Administrações pré-cirúrgicas:

Anestesia:

Administrações pós-cirúrgicas:

Notas:

Prescrição médica:

---

**7. Avaliação aos 8 dias pós-cirúrgico:**